«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

200_3

ORG 200 ANA Detect

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система ANA Detect (определения антител к ядерным антигенам) предназначена для качественного скрининга аутоантител класса IgG к SS-A-52 (Ro-52), SS-A-60 (Ro-60), SS-B (La), RNP/Sm, RNP-70, RNP-A, RNP-C, Sm-BB, Sm-D, Sm-E, Sm-F, Sm-G, Scl-70, Jo-1, dsDNA, ssDNA, полинуклеосомам, мононуклеосомам, комплексу гистонов, гистону H1, гистону H2A, гистону H2B, гистону 3, гистону H4, Pm-Scl-100 и центромеру B методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Тест-система используется для скрининга пациентов с подозрением на аутоиммунные заболевания соединительной ткани, например, системную красную волчанку, смешанное заболевание соединительной ткани, синдром Шегрена, склеродермию и полимиозит/дерматомиозит. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
200_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Смесь очищенных антигенов SS-A-52 (Ro-52), SS-A-60 (Ro-60), SS-B (La), RNP/Sm, RNP-70, RNP-A, RNP-C, Sm-BB, Sm-D, Sm-E, Sm-F, Sm-G, Scl-70, Jo-1, dsDNA, ssDNA, полинуклеосомы, мононуклеосомы, комплекс гистонов, гистон H1, гистон H2A, гистон H2B, гистон 3, гистон H4, Pm-Scl-100 и центромер B нанесены на микролунки.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

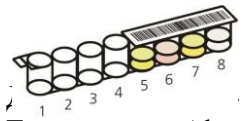
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **ANA Detect** на печатной этикетке: **ANADete**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50-х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

герметичном пакете.

- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 С. После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °С до пяти дней или при температуре -20 °С до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °С).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °С). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

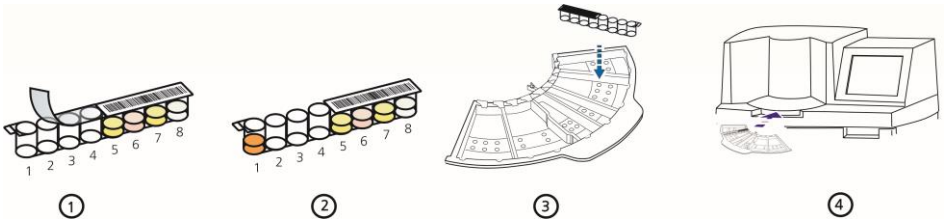
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА
Аналитическая система откалибрована по международно признанным эталонным сывороткам CDC, Атланта, США, а также по эталонному препарату ВОЗ Wo/80 для человеческих антител к двухцепочечной ДНК.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ
С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
Для качественных результатов автоматически рассчитывается «значение индекса» путем деления ОП образца на ОП внутреннего контроля порогового значения.

Ожидаемые значения
В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: Пороговое значение Индекс 1.0

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	Индекс < 1.0
Пороговое значение	Индекс 1.0 - 1.2
Положительный результат	Индекс> 1.2

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ
Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность
Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		Индекс	Индекс	(%)
1	1:100	5,6	5,6	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

.	1:200	3,0	2,8	107
.	1:400	1,6	1,4	111
.	1:800	0,8	0,7	109
2	1:100	4,9	4,9	100
.	1:200	2,3	2,5	94
.	1:400	1,1	1,2	90
.	1:800	0,6	0,6	98
3	1:100	4,6	4,6	100
.	1:200	2,1	2,3	91
.	1:400	1,3	1,2	110
.	1:800	0,7	0,6	113

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, индекс	КВ, %
1	1,0	2,8
2	1,5	2,9
3	2,5	2,7

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, индекс	КВ, %
1	1,0	3,6
2	1,6	5,5
3	2,7	9,4

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Системная красная волчанка	63	62	98,4
Синдром Шегрена	2	2	100,0
Смешанное заболевание соединительной ткани	9	9	100,0
Поли-/дерматомиозит	8	8	100,0
Склеродермия	3	3	100,0
CREST-синдром	9	9	100,0
Нормальная человеческая сыворотка	148	3	2,0

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 200	Пол.	93	3	
ANA Detect	Отр.	1	145	
		94	148	242

Чувствительность:	98.9 %
Специфичность:	98.0 %
Общая согласованность:	98.3 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420
-1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004;

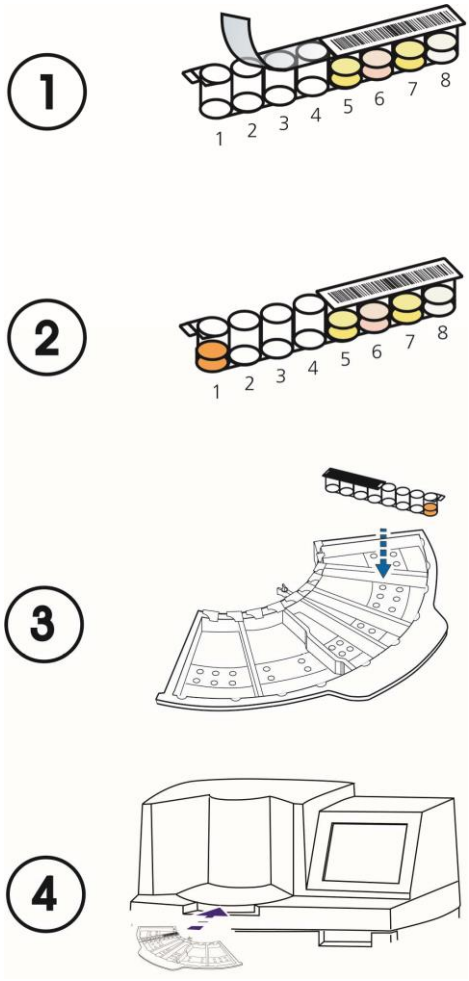
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

13(11):829
-837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Velte CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sci 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?--The routine use of anti-nuclear antibody screening ELISAs. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 200_IFU_EN_QM113042_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

238_4

ORG 238 ANAscreen

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система ANAscreen предназначена для качественного определения (скрининга) антител класса IgG к антигену SS-A предназначена для количественного определения антител к антигенам SS- A 60, SS-A 52, SS-B, RNP-70, Sm, RNP/Sm, Scl-70, центромере B, Jo-1 методом иммуноферментного анализа в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Тест -система используется для скрининга пациентов с подозрением на аутоиммунные заболевания соединительной ткани, например, системную красную волчанку, смешанное заболевание соединительной ткани, синдром Шегрена, склеродермию и полимиозит/дерматомиозит. Оценка результата аналиха всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
238_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Антигены SS-A (52 а 60 кДа), SS-B, RNP-70, Sm, RNP/Sm, Scl-70, центромера B и Jo-1связываются с микролунками.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

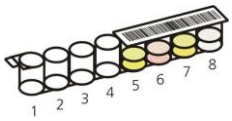
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **ANAscreen** на печатной этикетке: **ANAscr**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

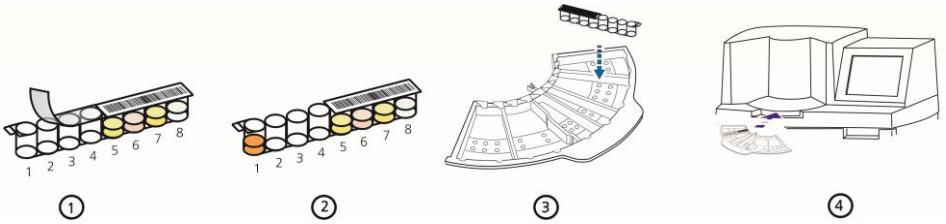
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для качественных результатов автоматически рассчитывается «значение индекса» путем деления ОП образца на ОП внутреннего контроля порогового значения.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: Пороговое значение Индекс 1.0

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	Индекс < 1.0
Пороговое значение	Индекс 1.0 - 1.2
Положительный результат	Индекс> 1.2

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		Индекс	Индекс	(%)
1	1:100	5,8	5,8	100
	1:200	2,7	2,9	93
	1:400	1,6	1,5	110

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:800	0,8	0,7	110
2	1:100	4,9	4,9	100
	1:200	2,7	2,5	110
	1:400	1,3	1,2	106
	1:800	0,6	0,6	98
3	1:100	4,2	4,2	100
	1:200	2,2	2,1	105
	1:400	1,2	1,1	114
	1:800	0,5	0,5	95

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, индекс	КВ, %
1	1,9	3,7
2	2,9	2,7
3	3,9	3,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, индекс	КВ, %
1	2,0	6,2
2	2,9	4,4
3	3,9	3,5

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция		n	**n pos**	%
Системная красная волчанка		63	60	95,2
Синдром Шегрена		10	10	100,0
Смешанное заболевание соединительной ткани		10	10	100,0
Поли-/дерматомиозит		8	7	87,5
Склеродермия		10	10	100,0
КРЕСТ-синдром		9	9	100,0
Нормальная человеческая сыворотка	148		3	2,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 238	Пол.	106	3	
ANAscreen	Отр.	4	145	
		110	148	258

Чувствительность:	96.4%
Специфичность:	98.0%
Общая согласованность:	97.3%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. На и g bro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010;

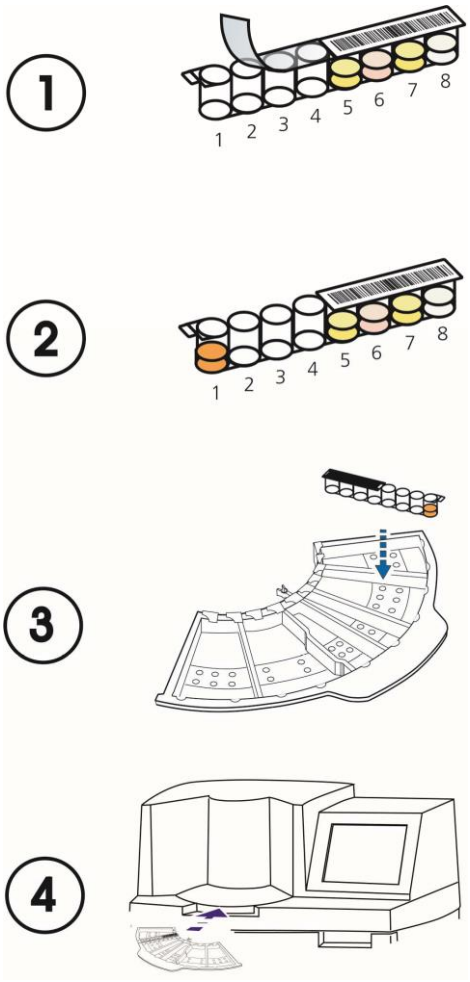
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 238_IFU_EN_QM113095_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице, редакционная правка

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

206_4

ORG 206 ENAscreen

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система ENAscreen предназначена для качественного скрининга аутоантител класса IgG к экстрагируемым ядерным антигенам: SS-A 60, SS-A 52, SS-B, Sm, RNP/Sm, Scl-70, и Jo-1, методом иммуноферментного анализа в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Тест-система используется для скрининга и дифференциации воспалительных аутоиммунных заболеваний, например, системную красную волчанку, смешанное заболевание соединительной ткани, синдром Шегрена, склеродермию и полимиозит/дерматомиозит. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
206_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Смесь экстрагируемых ядерных антигенов SS-A (52 а 60 кДа), SS-B, Sm, RNP/Sm, Scl 70 и Jo-1) связывается с микролунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

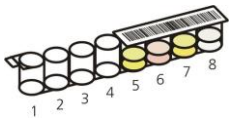
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **ENAscreen** на печатной этикетке: **ENAscr**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

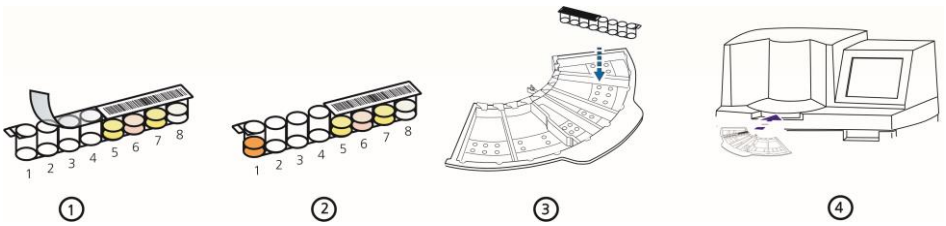
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для качественных результатов автоматически рассчитывается «значение индекса» путем деления ОП образца на ОП внутреннего контроля порогового значения.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: Пороговое значение Индекс 1.0

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	Индекс < 1.0
Положительный результат	Индекс≥ 1.0

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		Индекс	Индекс	(%)
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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	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

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, индекс	КВ, %
1	1,4	4,6
2	2,8	1,8
3	5,1	5,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, индекс	КВ, %
1	1,5	8,0
2	3,0	8,6
3	5,4	74

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Системная красная волчанка	25	22	88,0
Синдром Шегрена	10	10	100,0
Смешанное заболевание соединительной ткани	10	10	100,0
Склеродермия	10	9	90,0
Нормальная человеческая сыворотка	60	2	3,3
Ревматоидный артрит	20	1	5,0

Клинический диагноз

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		Пол.	Отр.	
ORG 206	Пол.	51	3	
ENAscreen	Отр.	4	77	
		55	80	135

Чувствительность:	92.7%
Специфичность:	96.3 %
Общая согласованность:	94.8 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Glad man D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.

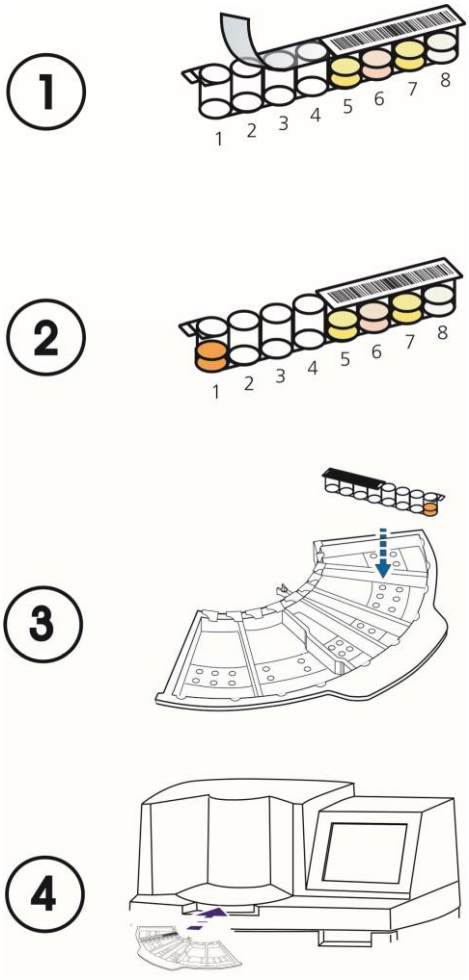
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?--The routine use of anti-nuclear antibody screening ELISAs. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 206_IFU_EN_QM113050_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

204A_4

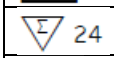
ORG 204A Anti-dsDNA IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-dsDNA IgA предназначена для количественного определения антител класса IgA к двухцепочечной ДНК методом иммуноферментного анализа в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике воспалительных аутоиммунных заболеваний, в частности системной красной волчанки (СКВ). Аутоантитела к двухцепочечной ДНК являются диагностическими маркерами СКВ, и их уровень может быть повышен во время активной стадии заболевания. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
204A_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Рекомбинантная человеческая двухцепочечная ДНК связывается с микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

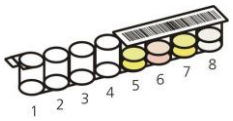
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **dsDNA IgA** на печатной этикетке: **ds-DNA-A**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления.

Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 C. После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

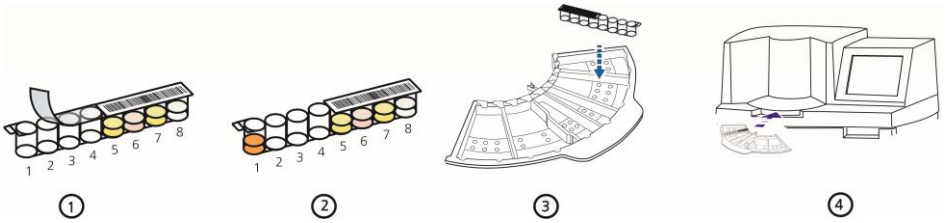
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 20 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 20 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 20 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	135,5	135,5	100
	1:200	65,1	67,8	96
	1:400	35,1	33,9	104
	1:800	17,5	16,9	103

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2	1:100	90,2	90,2	100
	1:200	44,6	45,1	99
	1:400	21,9	22,6	97
	1:800	11,9	11,3	106
3	1:100	164,2	164,2	100
	1:200	83,5	82,1	102
	1:400	40,9	41,1	100
	1:800	22,1	20,5	108

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	21,9	2,0
2	45,5	0,8
3	90,6	4,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	21,8	3,6
2	43,1	8,5
3	91,6	5,8

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Системная красная волчанка	202	51	25,2
Другое аутоиммунное заболевание	33	0	0,0
Нормальная человеческая сыворотка	115	0	0,0

Клинический диагноз
Пол. Отр.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORG 204A	Пол.	51	0	
Anti-dsDNA IgA	Отр.	151	148	
		202	148	350

Чувствительность:	25.2 %
Специфичность:	100.0 %
Общая согласованность:	56.9 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011 ; 13(1):R30.
7. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011 ; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7): 1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.

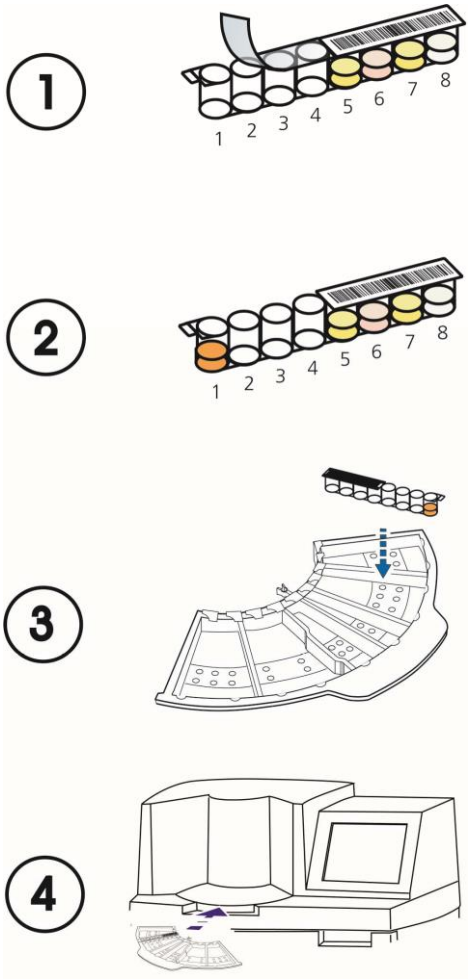
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverviewof the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 204A_IFU_EN_QM113045_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

204G_5

ORG 204G Anti-dsDNA IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-dsDNA IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к двухцепочечной ДНК методом иммуноферментного анализа в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике воспалительных аутоиммунных заболеваний, в частности системной красной волчанки (СКВ). Аутоантитела к двухцепочечной ДНК являются диагностическими маркерами СКВ, и их уровень может быть повышен во время активной стадии заболевания. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
204G_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантная человеческая двухцепочечная ДНК высокой степени очистки связывается с

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

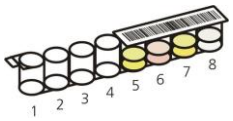
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **dsDNA IgG** на печатной этикетке: **ds-DNA- G**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 C. После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

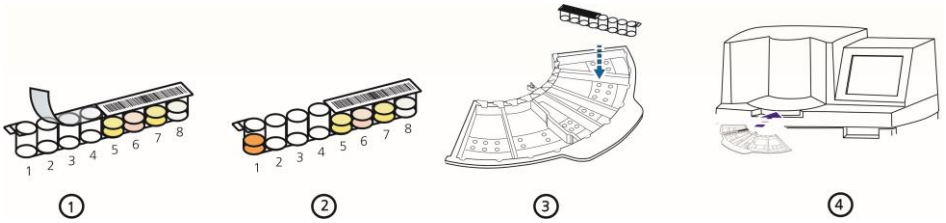
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международному эталонному препарату ВОЗ Wo/80 для антител к двухцепочечной ДНК человека на уровне 200 МЕ/мл.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 МЕ/мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 20 МЕ/мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 20 МЕ/мл
Повышенный результат:	≥ 20 МЕ/мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		МЕ/мл	МЕ/мл	(%)
1	1:100	126,8	126,8	100
	1:200	65,4	63,4	103
	1:400	31,2	31,7	98
	1:800	15,9	15,9	100
2	1:100	143,7	143,7	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	74,9	71,9	104
	1:400	38,6	35,9	107
	1:800	19,3	18,0	107
3	1:100	89,5	89,5	100
	1:200	46,9	44,8	105
	1:400	21,2	22,4	95
	1:800	10,1	11,2	90

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 МЕ/мл
Наименьшее количество обнаруживаемого аналита составляет: 5 МЕ/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	29,1	5,6
2	46,0	6,2
3	114,7	0,9

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	27,7	6,7
2	44,4	6,4
3	123,8	66

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Системная красная волчанка	202	164	81,2
Другое аутоиммунное заболевание	33	1	3,0
Нормальная человеческая сыворотка	115	1	0,9

Клинический диагноз
Пол. Отр.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORG 204G	Пол.	164	2	
Anti-dsDNA IgG	Отр.	38	146	
		202	148	350

Чувствительность:	81.2 %
Специфичность:	98.6 %
Общая согласованность:	88.6 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

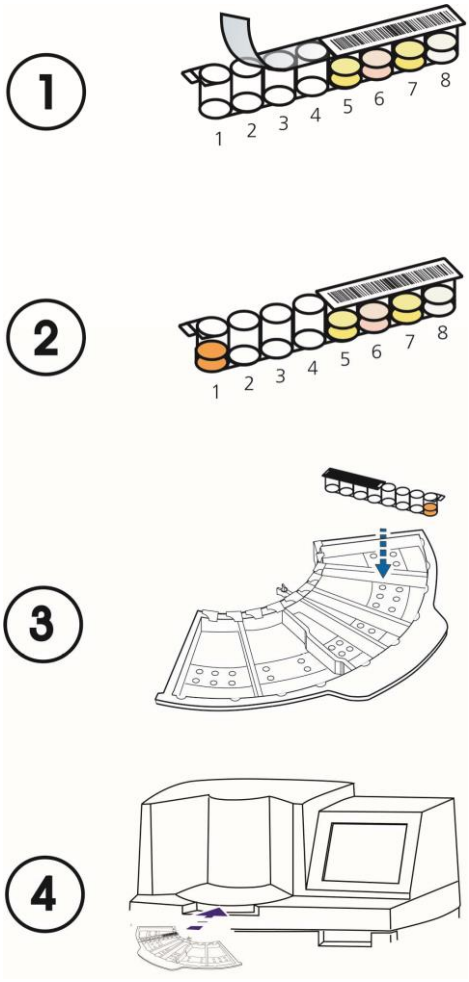
1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011 ; 13(1):R30.
7. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011 ; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson J J, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7): 1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverviewof the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 204G_IFU_EN_QM113046_2018-01-02_4*
Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

204M_4

ORG 204M Anti-dsDNA IgM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-dsDNA IgM предназначена для количественного определения антител класса IgM к двухцепочечной ДНК методом иммуноферментного анализа в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике воспалительных аутоиммунных заболеваний, в частности системной красной волчанки (СКВ). Аутоантитела к двухцепочечной ДНК являются диагностическими маркерами СКВ, и их уровень может быть повышен во время активной стадии заболевания. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
204M_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантная человеческая двухцепочечная ДНК высокой степени очистки связывается с

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

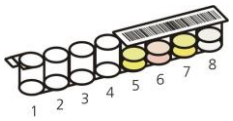
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **dsDNA IgM** на печатной этикетке: **ds-DNA- M**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 C. После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

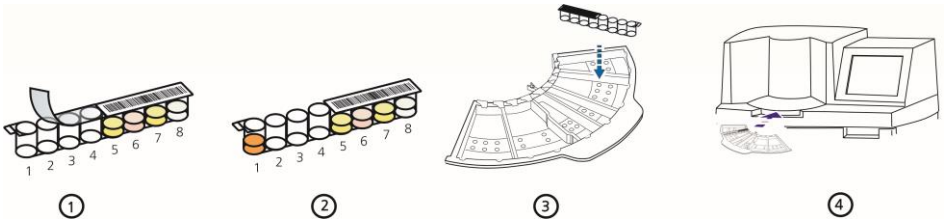
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 20 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 20 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 20 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	129,2	129,2	100
	1:200	65,9	64,6	102
	1:400	34,1	32,3	106
	1:800	15,6	16,2	97
2	1:100	99,3	99,3	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	46,5	49,7	94
	1:400	24,9	24,8	100
	1:800	12,9	12,4	104
3	1:100	150,6	150,6	100
	1:200	77,1	75,3	102
	1:400	36,5	37,7	97
	1:800	20,5	18,8	109

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	36,0	2,0
2	107,1	3,8
3	191,4	1,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	34,3	5,0
2	97,2	9,9
3	175,1	95

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Системная красная волчанка	202	115	56,9
Другое аутоиммунное заболевание	33	1	3,0
Нормальная человеческая сыворотка	115	1	0,9

Клинический диагноз
Пол. Отр.

ORG 204M	Пол.	115	2

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-dsDNA IgM	Отр.	87	146	
		202	148	350

Чувствительность:	56.9 %
Специфичность:	98.6 %
Общая согласованность:	74.6 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011 ; 13(1):R30.
7. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011 ; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson J J, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7): 1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked

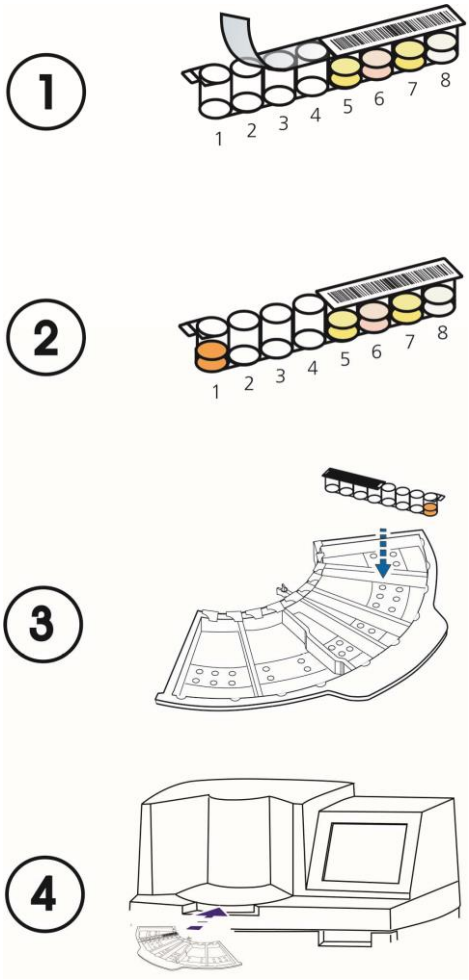
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverviewof the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 204M_IFU_EN_QM113047_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

204S_4

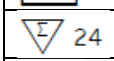
ORG 204S Anti-dsDNA Screen

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-dsDNA Screen (скрининг антител к двухцепочечной ДНК) внутрианалитическая предназначена для количественного определения антител класса IgG, IgA и IgM к двухцепочечной ДНК методом иммуноферментного анализа в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике воспалительных аутоиммунных заболеваний, в частности системной красной волчанки (СКВ). Аутоантитела к двухцепочечной ДНК являются диагностическими маркерами СКВ, и их уровень может быть повышен во время активной стадии заболевания. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
204S_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантная человеческая двухцепочечная ДНК связывается с микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

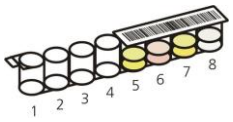
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP , антитела класса IgG, IgA и IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **dsDNA Screen** на печатной этикетке: **ds-DNA-S**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

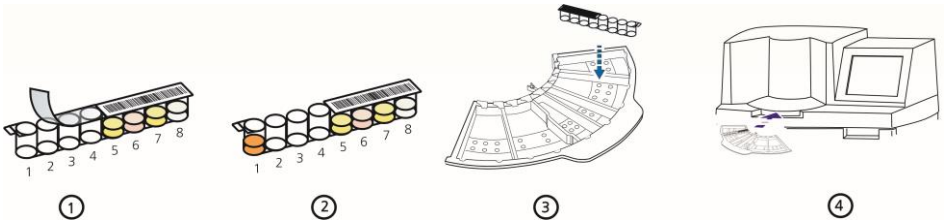
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 25 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 25 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	145,8	145,8	100
	1:200	70,6	72,9	97
	1:400	38,5	36,5	106
	1:800	17,5	18,2	96

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2	1:100	112,3	112,3	100
	1:200	55,6	56,2	99
	1:400	29,1	28,1	104
	1:800	13,9	14,0	99
3	1:100	90,6	90,6	100
	1:200	46,9	45,3	104
	1:400	10,9	22,7	48
	1:800	11,0	11,3	97

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	33,4	1,7
2	88,6	4,2
3	154,9	4,0

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	35,6	5,2
2	98,5	8,6
3	170,8	79

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Системная красная волчанка	202	168	83,2
Другое аутоиммунное заболевание	33	1	3,0
Нормальная человеческая сыворотка	115	2	1,7

		Клинический диагноз	
		Пол.	Отр.
ORG 204S	Пол.	168	3

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-dsDNA Screen	Отр.	34	145	
		202	148	350

Чувствительность:	83.2%
Специфичность:	98.0 %
Общая согласованность:	89.4 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011 ; 13(1):R30.
7. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011 ; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson J J, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7): 1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked

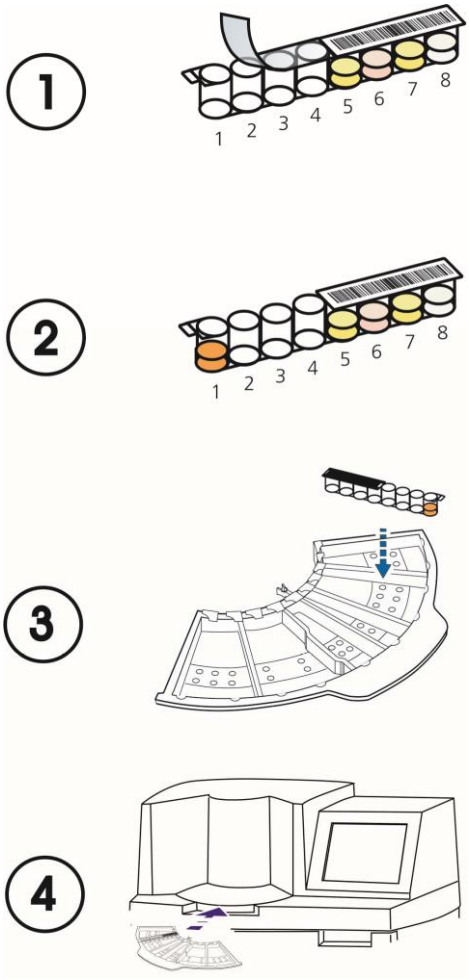
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverviewof the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 204S_IFU_EN_QM113048_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

228_4

ORG 228 Anti-Nucleosome

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Nucleosome для количественного определения антител к нуклеосоме методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Определение аутоантител к нуклеосому играет важную роль в диагностике системной красной волчанки (СКВ), особенно если антитела к двухцепочечной ДНК не обнаруживаются. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
228_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Нуклеосомы человека связываются с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

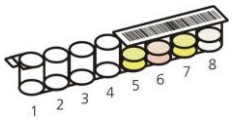
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Nucleosome** на печатной этикетке: **Nucleoso**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

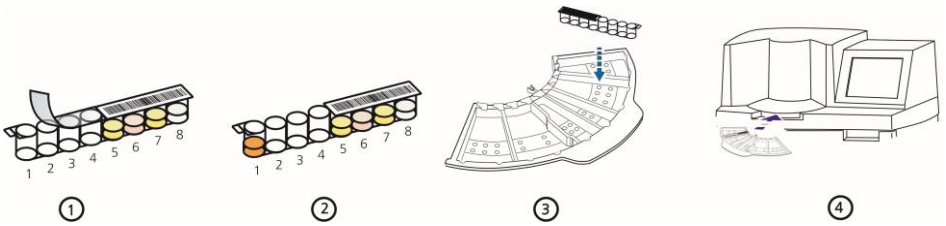
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 20 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 20 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 20 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	182,2	182,2	100
	1:200	93,6	91,1	103
	1:400	47,1	45,6	103
	1:800	20,9	22,8	92
2	1:100	151,2	151,2	100
	1:200	74,1	75,6	98
	1:400	39,2	37,8	104

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:800	20,9	18,9	111
3	1:100	105,9	105,9	100
	1:200	50,9	53,0	96
	1:400	27,1	26,5	102
	1:800	14,5	13,2	110

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	22,9	2,7
2	34,2	2,6
3	109,2	4,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	17,2	5,6
2	52,7	4,5
3	150,9	70

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Системная красная волчанка	110	107	97,3
Ревматоидный артрит	20	0	0,0
Нормальная человеческая сыворотка	200	7	3,5

Иммунологический диагноз

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 228	Пол.	107	7	
Anti-Nucleosome	Отр.	3	213	
		110	220	330

Чувствительность:	97.3 %
Специфичность:	96.8 %
Общая согласованность:	97.0 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

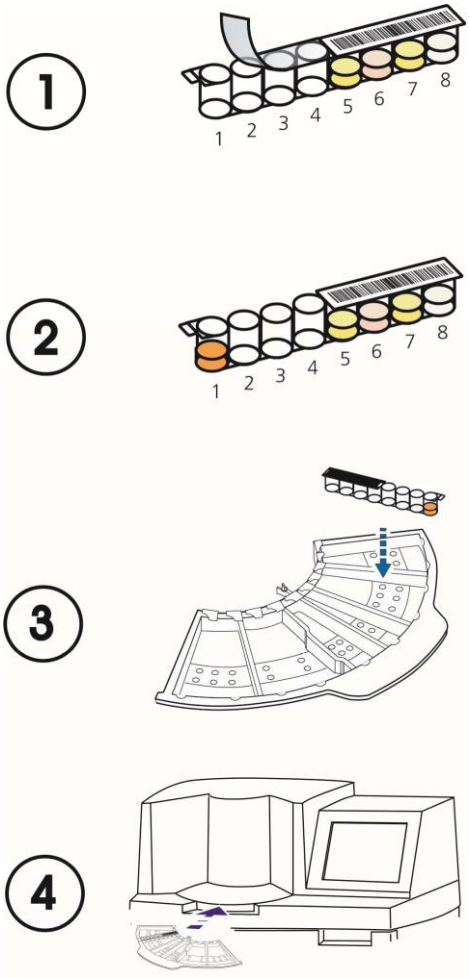
1. Burlingame RW, Boey ML, Starkebaum G, et al. The central role of chromatin in autoimmune responses to histones and DNA in systemic lupus erythematosus. J Clin Invest, Jul 1994, 94(1) p 184-92
2. Hardin J. A. The lupus autoantigens and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum, Apr 1986, 29 (4) p457-60
3. Amital H, Shoenfeld Y. Nucleosomes, DNA and SLE: where is the starting point? [editorial; comment]. Clin Exp Rheumatol, Sep-Oct 1996, 14 (5) p475-7
4. Burlingame R. W. The clinical utility of antihistone antibodies. Autoantibodies reactive with chromatin in systemic lupus erythematosus and drug-induced lupus. Clin Lab Med, Sep 1997, 17(3) p367-78
5. Berden J. H., Licht R., van Brüggen M. C., et al. Role of nucleosomes for induction and glomerular binding of autoantibodies in lupus nephritis. Curr Opin Nephrol Hypertens, May 1999, 8(3) p299-306
6. Amoura Z., Koutouzov S., Chabre H., et al. Presence of anti-nucleosome autoantibodies in a restricted set of connective tissue diseases: anti-nucleosome antibodies of the lgG3 subclass are markers of renal pathogenicity in systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum, Jan 2000, 43(1) p76-84
7. Chabre H., Amoura Z., Piette J. C., et al. Presence of nucleosome-restricted antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum, Oct 1995, 38.(10) pl485-91
8. Holman HR, Kunkel HG Affinity between the lupus erythematosus serum factor and cell nuclei and nucleoprotein. Science, 1957, 126 p.162-3

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 228_IFU_EN_QM113080_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

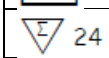
249_4

ORG 249 Anti-C1q

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-C1q предназначена для количественного определения антител к антигену C1q методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике системных аутоиммунных заболеваний , в частности системной красной волчанки, волчаночного нефрита. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
249_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Человеческий антиген C1q высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

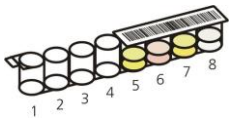
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **C1q** на печатной этикетке: ***Anti-C1q***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

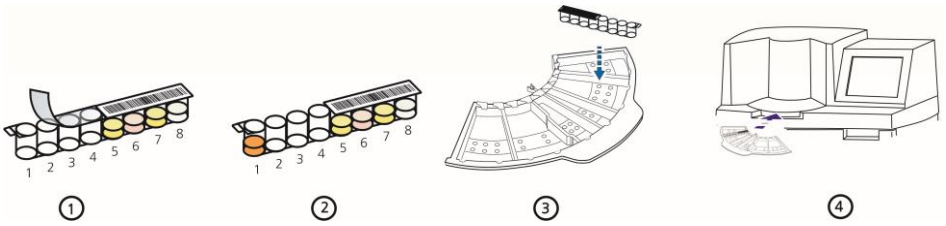
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	85,6	85,6	100
	1:200	43,7	42,8	102
	1:400	20,6	21,4	96
	1:800	11,1	10,7	104
2	1:100	71,2	71,2	100
	1:200	36,8	35,6	103

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	18,3	17,8	103
	1:800	8,6	8,9	97
3	1:100	97,2	97,2	100
	1:200	50,1	48,6	103
	1:400	23,6	24,3	97
	1:800	12,9	12,2	106

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	20,3	3,8
2	31,4	5,3
3	62,0	3,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	19,6	3,9
2	32,9	6,3
3	60,7	53

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Волчаночный нефрит	34	29	85,3
Системная красная волчанка	70	41	58,6
Прочие болезни	91	13	14,3
Нормальная человеческая сыворотка	74	3	4,1

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 249	Пол.	70	16	
Anti-C1q	Отр.	34	149	
		104	165	269

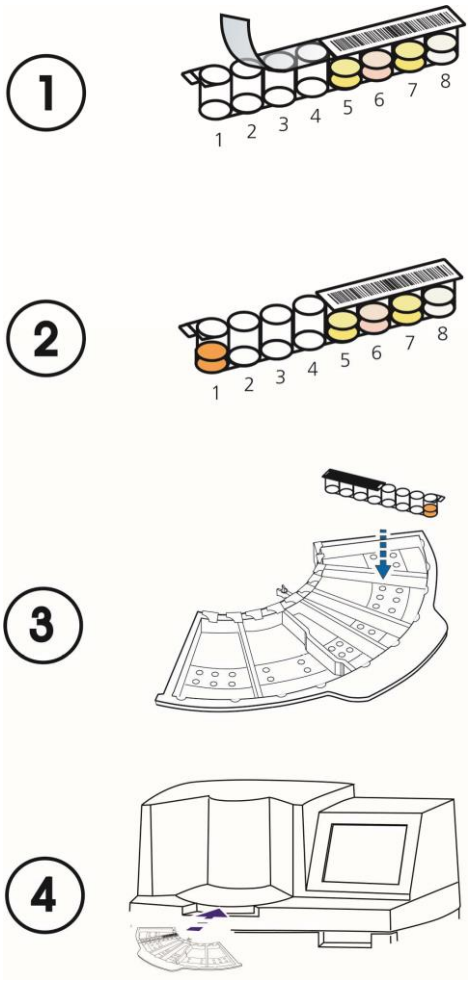
Чувствительность:	67.3%
Специфичность:	90.3%
Общая согласованность:	81.4%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Siegert, C. E. H., and M. R. Daha. C1q as Antigen in Humoral Autoimmune Re-sponses. Immunobiologie, 1998, 199 (2): 295-302.
2. Kumar, A., R. Gupta, T, Varghese, R. M. Rande, V. K. Singal, and O. P. Garg. Anti-C1q antibody as a marker of disease activity in systemic lupus erythematosus. Indian J Med Res, 1999, 110:190-193
3. Walport, M. J. Complement and systemic lupus erythematosus. Arthritis Res., 2002, 4 (suppl 3): 279-293.
4. Botto, M., Ch. DellAgnola, A. E. Bygrave, E. M. Thompson, H. T. Cook, F. Petry, M. Loos, P. P. Pandolfi, and M.
J. Walport. Homozygous C1q deficiency causes glomerulonephritis associated with multiple apoptotic bodies. Nat. Genetics, 1998, 19(1): 56-59
5. Walport, M. J., K. A.Davies, M. Botto. C1q and Systemic Lupus Erythematosus. Immunobiologie, 1998, 199 (2): 265-285.
6. Trendelenburg, M., and J. A. Schifferli. Apoptose und C1q: Erklärungsansätze für die Pathogenese des SLE. Z Rheumatol., 2000, 59: 172-175.
7. Conrad, K., W. Schößler, and F. Hiepe. Autoantikörper bei systemischen Autoimmunerkrankungen. Pabst Science Publishers, 2001, p. 38.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

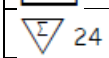
207_4

ORG 207 Anti-Histone

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Histone предназначена для количественного определения антител класса IgG к гистону методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике воспалительных аутоиммунных заболеваний, в частности синдрома лекарственной волчанки. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
207_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Общие гистоны высокой степени очистки связываются с микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

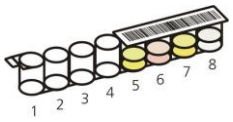
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Histone** на печатной этикетке: **Histone**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

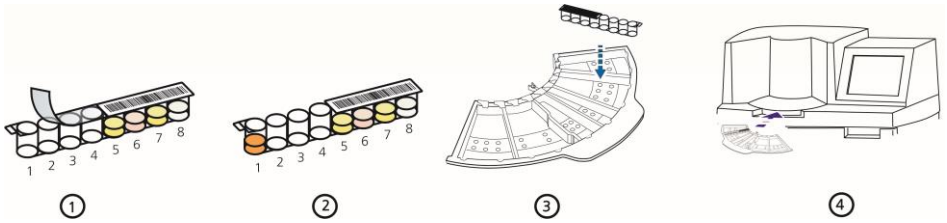
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международному эталонному препарату ВОЗ MRC 66/233 для человеческого антинуклеарного фактора (гомогенного) в концентрации 100 ед./мл.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 40 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 40 ед/мл
Повышенный результат:	≥ 40 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	170,1	170,1	100
	1:200	84,1	85,1	101
	1:400	43,2	42,5	98
	1:800	22,6	21,3	94
2	1:100	182,3	182,3	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	90,1	91,2	101
	1:400	46,5	45,6	98
	1:800	23,2	22,8	98
3	1:100	160,5	160,5	100
	1:200	81,2	80,3	99
	1:400	42,3	40,1	95
	1:800	22,1	20,1	91

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	47,6	4,1
2	75,5	2,4
3	186,5	1,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	47,0	3,0
2	76,2	5,1
3	182,4	32

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Синдром лекарственной волчанки	43	40	93,0
Нормальная человеческая сыворотка	150	2	1,3

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 207	Пол.	40	2	
Anti-Histone	Отр.	3	148	
		43	150	193

Чувствительность:	93.0%
Специфичность:	98.7 %
Общая согласованность:	97.4 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Slor, Hanoch, Sobe, Tama and Shoenfeld, Yehuda. Quantification of Anti-Nuclear Autoantibodies by Enzyme Immunoassay (EIA): Specificity, Correlation with Other Methods, and Clinical Significance. Dept.of Human Genetics, Sackler School of Medicine,Tel Aviv University; and Research Unit for Autoimmune diseases, Soroka, Medical Center; Faculty of Health Sciences, Ben Gurion Universtity, Beer Sheva, Israel.BioHyTech (Israel) LTD; reprinted from Quarterly Medical Review 1987;Vol. 1, no. 4.
2. Cohnen, G. Arzneimittelinduzierte Lupus-erythematodes-ähnliche Syndrome. Allergologie 1985; Jahrgang 8, Nr. 7: 282-92.
3. Kalden, J. R. Klinik, Diagnostik und Behandlung des Lupus erythematodes. Internistische Welt 1980; 4: 119-25.
4. Weiner, E.M., Martinho, C., Genth, E. Histon-Antikörper-Nachweis mittels Immunoblot und ELISA bei rheumatischen Erkrankungen . Zeitschrift f. Rheumatologie 1992; 51, suppl. 2: 76.
5. Schoenfeld, Y. and Segel, O. Anti-Histone antibodies in SLE and other autoimmune disease Clin, and Exp. Rheum. 1989; 7: 265-271.
6. Cohen, M.G. and Weib, J. Anti-histone antibodies in Rheumatoid arthritis and Felty's syndrome. Arthr. and Rheum. 1989; 32, no. 10

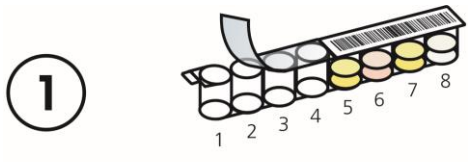
Уведомление для пользователя (Европейский Союз):

Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями

Предыдущая версия: *ORG 207_IFU_EN_QM113051_2014-06-26_2*

Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*



Ol

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

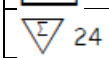
242G_4

ORG 242G Anti-alpha-Fodrin IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-alpha-Fodrin IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к альфа-фодрину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике воспалительных аутоиммунных заболеваний, в частности синдрома Шегрена и ревмаатоидного артрита. Оценка результата аналиха всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
242G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Альфа-фодрин человека связываются с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

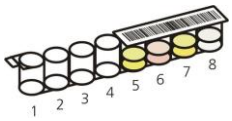
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код в штрихкоде: **alpha Fodrin IgG** на печатной этикетке: **aFod- lgG**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °С.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

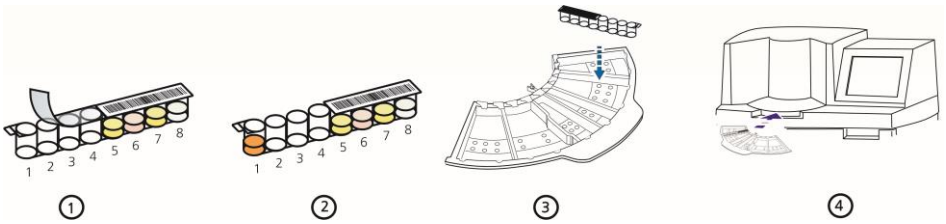
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	72,2	72,2	100
	1:200	37,5	36,1	104
	1:400	18,6	18,1	103
	1:800	8,9	9,0	99
2	1:100	93,6	93,6	100
	1:200	47,8	46,8	102
	1:400	22,9	23,4	98

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:800	11,9	11,7	102
3	1:100	58,3	58,3	100
	1:200	28,9	29,2	99
	1:400	14,9	14,6	102
	1:800	7,0	7,3	96

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	16,3	0,7
2	33,2	5,4
3	73,2	3,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	16,6	3,6
2	33,1	7,1
3	75,6	49

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция		n	**n pos**	%
Синдром Шегрена		65	59	90,8
Ревматоидный артрит	70		23	32,9
Нормальная человеческая сыворотка	100		7	7,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 242G	Пол.	82	7	
Anti-alpha-Fodrin IgG	Отр.	53	93	
		135	100	235

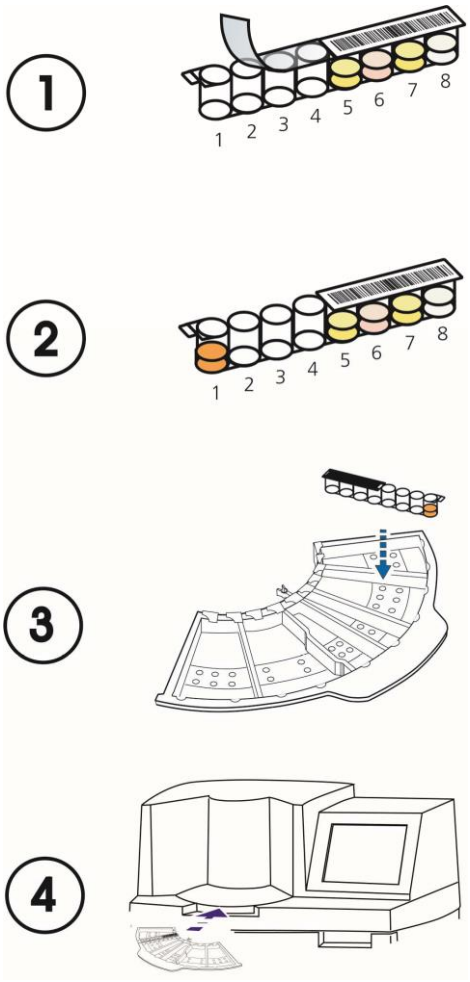
Чувствительность:	60.7%
Специфичность:	93.0%
Общая согласованность:	74.5%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Bell M, Askari A, Bookman A, Frydrych S, Lamont J, McComb J, Muscoplat C, Slomovic A. Sjogren's syndrome: A critical review of clinical management. J Rheumatol 1999; 26:2051- 61.
2. Haneji N, Nakamura T, TakioK, Yanagi K, Higashiyama H, Saito I, Noji S, Sugino H, Hayashi Y. Identification of alpha-fodrin as a candidate autoantigen in primary Sjögren's syndrome. Science 1997; 276 :604-7
3. Harley JB,Alexander EL, Bias WB, Fox OF, Provost TT, Reichlin M,Yamagata H,Arnett FC. Anti-Ro (SS-A) and anti-La (SS-B) in patients with Sjögren's syn-drome. Arthritis Rheum 1986; 29:196-206.
4. Kobayashi I, Kawamura N, Okano M, Shikano T, Mizumoto M, Hayashi Y, Kobayashi K. Anti-alpha-Fodrin autoantibody is an early diagnostic marker for childhood primary Sjögren's syndrome. J Rheumatol 2001 ; 28:363 -5.
5. Maeno N,TakeiS, Imanaka H.Oda H,Yanagi K, Hayashi Y, Miyata K. Anti-alpha-Fodrin antibodies in Sjögren's syndrome in children. J Rheumatol 2001; 28:860-4.
6. Martin SJ, O'Brien GA, Nishioka WN,McGahon AJ,Mahboubi A, Saido TC, Green DR. Proteolysis of fodrin (non- erythroid spectrin) during apoptosis. J Biol Chem 1995; 270:6425-8.
7. Saegusa K, Ishimaru N, Yanagi K, Haneji N, Nishino M, Azuma M, Saito I, Hayashi Y. Autoantigen-specific CD4 +CD28low T cell subset prevents autoimmune exocrinopathy in murine Sjögren's syndrome. J Immunol 2000; 165:2251-2257.
8. Saegusa K, Ishimaru N, Yanagi K, Arakaki R, Ogawa K, Saito I, Katunuma N, Hayashi Y. Cathepsin S inhibitor prevents autoantigen presentation and autoimmunity. J Clin Invest 2002 Aug;110(3): 361-9
9. Sjögren H, Bloch K. Keratoconjuntivitis sicca and the Sjögren's syndrome. Surv Opthalmol 1971 ; 16:145-59.
10. Takahashi K, TatsuzawaO, Yanagi K, Hayashi Y, Takahashi H. Alpha-fodrin auto-antibody in Sjögren syndrome and other auto-immune diseases in childhood. Eur J Pediatr 2001; 160(8):520-1.
11. Vanags DM, Pörn-Ares Ml, Coppola S, Burgess DH, Orrenius S. Protease involvement in fodrin cleavage and phosphatidylserine exposure in apoptosis. J Biol Chem 1996; 271:31075-85
12. Watanabe T, Tsuchida T, Kanda N, Mori K, Hayashi Y, Tamaki K. Anti-alpha-fodrin antibodies in Sjögren's syndrome and lupus erythematosus. Arch Dermatol 1999; 135:535-9.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

248_5

ORG 248 Anti-MCV

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-MCV предназначена для количественного определения антител класса IgG к модифицированному цитруллинированному виментину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Определение уровня антител к модифицированному цитруллинированному виментину способствует ранней диагностике ревматоидного артрита (РА), где уровень данных антител представляет собой один из параметров многокритериального диагностического процесса, включающего результаты как клинических, так и лабораторных исследований.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
8°C 2°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
248_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Модифицированный цитруллинированный виментин связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

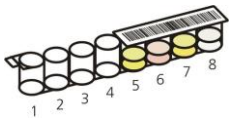
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **MCV** на печатной этикетке: ***Anti-MCV***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

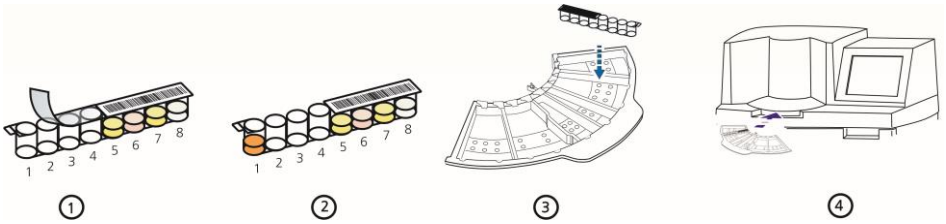
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 20 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 20 ед./мл
Повышенный результат:	> 20 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	726,6	726,6	100
	1:200	351,2	363,3	97
	1:400	183,9	181,7	101
	1:800	89,2	90,8	98
2	1:100	311,5	311,5	100
	1:200	153,2	155,8	98

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	78,3	77,9	101
	1:800	40,1	38,9	103
3	1:100	103,6	103,6	100
	1:200	52,6	51,8	102
	1:400	24,6	25,9	95
	1:800	12,7	13,0	98

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	36,9	7,0
2	182,1	5,4
3	670,1	6,2

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	37,6	9,8
2	195,3	5,8
3	765,4	57

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Ревматоидный артрит	100	82	82,0
Нормальная человеческая сыворотка	230	5	2,2

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 248	Пол.	82	5	
Anti-MCV	Отр.	18	225	
		100	230	330

Чувствительность:	82.0%
Специфичность:	97.8%
Общая согласованность:	93.0%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

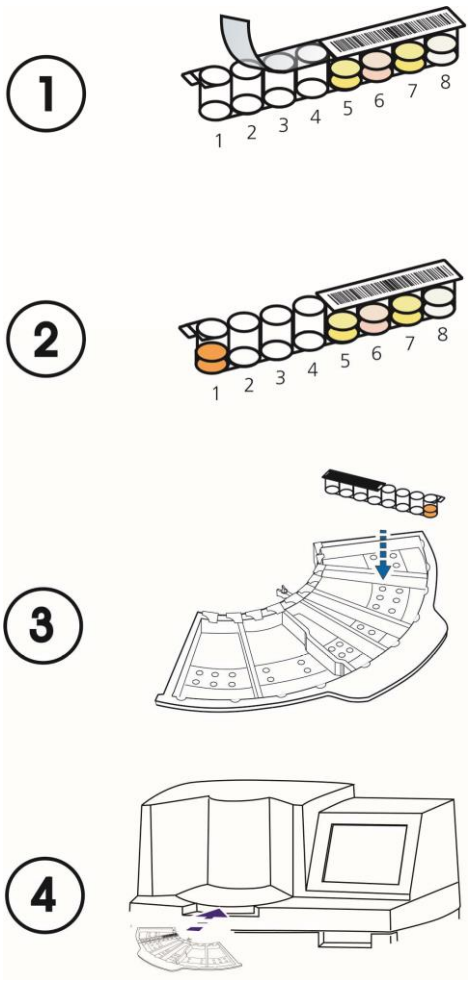
1. F.Bobbio-Pallavicini, C.AIpini, R.Caporali, S.Avalle, S.Bugatti, C.Montecuccio. Autoantibody profile in rheumatoid arthritis during long-term infliximab treatment. Arthritis Res Ther 2004, 6:R264-R272 (DOI 10.11 86/ar1173)
2. E.R.Vossenaar, N.Deprés, E.Lapointe,A.van der Heijden, M.Lora,T.Senshu,W.J.van Venfooij, H.A.Ménard. Rheumatoid arthritis specific anti Sa antibodies target citrullinated vimentin. Arthritis Research & Therapie Vol.6 No.2
3. O.Vittecoq, S.Poplin, K.Krzanowska, F.Jouen-Beades, J.F.Ménard, A.Daragon, F.Tron, X.Loet. Rheumatoid Factor is the strongest predictor of radiological progression of rheumatoid arthritis in a three-year prospective study in community-recruited patients. Rheumatology 2003; 42:939-946
4. W.J. van Venrooij, J.M.Hazes, H.Visser. Anticitrullinated protein/peptide antibody and its role in the diagnosis and prognosis of early rheumatoid arthritis. The Netherland Journal of Medicine.
5. M.Escalon, F.J.Lopees-Longo, C.M. Gonzalez, I.Monteagudo, M.Rodriguez-Mahou, R.Grau, L.Carreno. Anti-Sa Sera from patients with Rheumatoid Arthritis contain at least 2 different subpopulations of Anti-Sa antibodies. The Journal of Rheumatology 2002; 29:10 2053-60
6. Ch.Vincent, L.Nogueira, M.Sebba, S.Chapuy-Regaud, M.Arnaud, O.Letourneur, D.Rolland, B.Rounie, A. Cantagrel, M.Jolivet, G.Serre. Detecion of antibodies to dertermined recombinant tat filaggrin by Enzyme- Linked Immunosorbent Assay. Arthritis & Rheumatism Vo. 46, No.8, August 2002, pp. 2051 -58
7. G.Steiner, J.Smolen. Antibodies in rheumatoid arthritis and their clinical significance. Arthritis Res 2002,4 (suppl 2):S1-S5
8. R.Goldbach-Mansky, J.Lee, A.McCoy, J. Hex worth, C.Yarboro, J.S.Smolen, G.Steiner, A.Rosen, CZhang, H.A. Ménard, Z.J.Zhou, T.Palosuo, W.J.VanVenrooij, R.L.Wilder, J.H.Klippel, H.R.Schumacher Jr., H.S.EI-Gabalawy. Rheumatoid arthritis associated antibodies in pati-ents with synovitis of recent onset. Arthritis Res 2000,2:236- 243
9. H.Ménard, E.Lapointe, M.D.Rochdi, Z.J.Zhou. Insights into rheumatoid arthritis derived from the Sa immune system. Arthritis Research 2000,2:429-432
10. G.Hayem, P.Chazerain, B.Combe, A.Elias, T.Haim, P.Nicaise, K.Benali, J-F Eliau, M-F Kahn, J.Sany, O.Meyer. Anti-Sa antibody is an accurate diagnostic and prognostic Marker in adult Rheumatoid Arthritis.The Journal of Rheumatology 1 999;26:7-1 3
11. N. Deprés, G.Boire, F.J. Lopez-Longo, H.A. Ménard. The Sa System : A novel antigen antibo-dy system specific for rheumatoid arthritis. The Journal of Rheumatology 1994; 21 -:1 027- 33
12. E.R.Vossenaar,T.R.D. Radstake,A. van der Heijden, M.A.M. van Mansum, C. Dieteren, D.-J. de Rooij, P. Barrera, A.J.W. Zendman,W.J. van Venrooij. Expression and activity of citrullinatin peptidylarginine deiminase enzymes in monocytes and macrophages. Ann Rheum Dis 2004; 63:373-381
13. H. Burkhardt, B. Sehnert, R. Bockermann, A. Engstrom, J.R. Kalden, R. Holmdahl. Humoral immune response to citrullinated collagen type II determinants in early rheumatoid arthritis. Eur. J. Immunol.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2005.35: 1643-1652
14. Ch.Vincent, L. Nogueira, C. Clavel, M. Sebbag, G. Serre. Autoantibodies to citrullinated pro-teins: ACPA. Autoimmunity, February 2005; 38 (1): 17-24
15. M. Sebbag, S. Chapuy-Regaud, I. Auger, E. Petit-Texeira, C. Clavel, L. Nogueira, Ch.Vincent, F. Cornélis,J. Roudier, G. Serre.Clinical and pathophysiological significance of the autoimmu-me response to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. Joint bone Spine 71 (2004) 493-502 References Concerning Classification of RA
16. Liao KP, Batra KL, Chibnik L, Schur PH, Costenbader KH. Anti-CCP revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2008.
17. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1988; 31 (3):315 -24.Further Reading on Diagnostic Performance of Anti-MCV vs. Predicate Assay:
18. Gyetvai A, Szekanecz Z, Soos L, Szabo Z, Fekete A, Kapitany A et al. New classification of the shared epitope in rheumatoid arthritis: impact on the production of various anti-citrullinated protein antibodies. Rheumatology (Oxford) 2010; 49(1):25-33.
19. Pruijn G, Wiik A, van Venrooij W. The use of citrullinated peptides and proteins for the diagnosis of rheumatoid arthritis. Arthritis Research & Therapy 2010; 12(1):203.
20. Aggarwal R, Liao K, Nair R, Ringold S, Costenbander KH. Anti-citrullinated peptide antibody assays and their role in the diagnosis of rheumatoid arthritis. Athritis Rheum 2009; 61(11):1472-83.
21. Feitsma AL, van der Voort El, Franken KL, El BH, Elferink BG, Drijfhout JW et al. Identification of citrullinated vimentin peptides as T cell epitopes in HLA-DR4-positive patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2009; 62(1):117-25.
22. Klareskog L, Catrina Al, Paget S. Rheumatoid arthritis. Lancet 2009; 373(9664):659-72.
23. Liu X, Jia R, Zhao J, Li Z. The Role of Anti-Mutated Citrullinated Vimentin Antibodies in the Diagnosis of Early Rheumatoid Arthritis. J Rheumatol 2009.
24. Luime JJ, Colin EM, Hazes JM, Lubberts E. Does anti-MCV has additional value as serological marker in the diagnostic and prognostic work-up of patients with rheumatoid arthritis? A systematic review. Ann Rheum Dis 2009.
25. Mjaavatten MD, Uhlig T, Haugen AJ, Nygaard H, Sidenvall G, Helgetveit K et al. Positive anti-citrullinated protein antibody status and small joint arthritis are consistent predictors of chronic disease in patients with very early arthritis: results from the NOR-VEAC cohort. Arthritis Res Ther2009; 11(5):R146.
26. Engelmann R, Brandt J, Eggert M, Karberg K, Krause A, Neeck G et al. The Anti-mutated Citrullinated Vimentin Response Classifies Patients with Rheumatoid Arthritis into Broad and Narrow Responders. J Rheumatol 2009.
27. Raza K, Mathsson L, Buckley CD, Filer A, Ronnelid J. Anti-modified citrullinated vimentin (MCV) antibodies in patients with very early synovitis. Ann Rheum Dis 2009.
28. Snir O, Widhe M, Hermansson M, von SC, Lindberg J, Hensen S et al. Antibodies to several citrullinated antigens are enriched in the joints of rheumatoid arthritis patients. Arthritis Rheum 2009; 62(1):44-52.
29. Syversen SW, Goll GL, van der Heijde D, Landewe R, Lie BA, Odegard S et al. Prediction of radiographic progression in rheumatoid arthritis and the role of antibodies against mutated citrullinated vimentin: results from a ten-year prospective study. Ann Rheum Dis 2009.
30. van der Linden MP, van der Woude D, loan-Facsinay A, Levarht EW, Stoeken-Rijsbergen G, Huizinga TW et al. Value of anti-modified citrullinated vimentin and third-generation anti-cyclic citrullinated peptide compared with second-generation anti-cyclic citrullinated peptide and rheumatoid factor in predicting disease outcome in undifferentiated arthritis and rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2009; 60(8):2232-41.
31. Wagner E, Skoumal M, Bayer PM, Klaushofer K. Antibody against mutated citrullinated vimentin: a new sensitive marker in the diagnosis of rheumatoid arthritis. Rheumatol I nt 2009.
32. Keskin G, Inal A, Keskin D, Pekel A, Baysal O, Dizer U et al. Diagnostic Utility of Anti-Cyclic Citrullinated Peptide and Anti-Modified Citrullinated Vimentin Antibodies in Rheumatoid Arthritis. Protein Pept Lett 2008; 15 (3):314-7.
33. Szekanecz Z, Lakos G. Rheumatoid arthritis diagnosis with antimutated citrullinated vimentin ELISA by Orgentec Diagnostika. Exp Opin Med Diagnostics 2008; 2(9): 1083-90.
34. Szekanecz Z, Soos L, Szabo Z, Fekete A, Kapitany A, Vegvari A et al. Anti-Citrullinated Protein Antibodies in Rheumatoid Arthritis: As Good as it Gets? Clin Rev Allergy Immunol 2008; 34(1):26-31.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

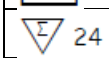
301_2

ORG 301 Anti-CCP hs® (high sensitive)

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-CCP hs® (high sensitive) предназначена для количественного определения антител класса IgG к циклическим цитруллинированным пептидам методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Определение уровня антител к циклическим цитруллинированным пептидам способствует ранней диагностике ревматоидного артрита (РА), где уровень данных антител представляет собой один из параметров многокритериального диагностического процесса, включающего результаты как клинических, так и лабораторных исследований.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
301_2	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Циклические цитруллинированные пептиды высокой степени очистки связываются с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

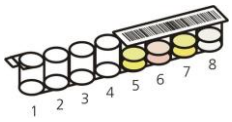
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **CCP hs** на печатной этикетке: **CCP hs**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

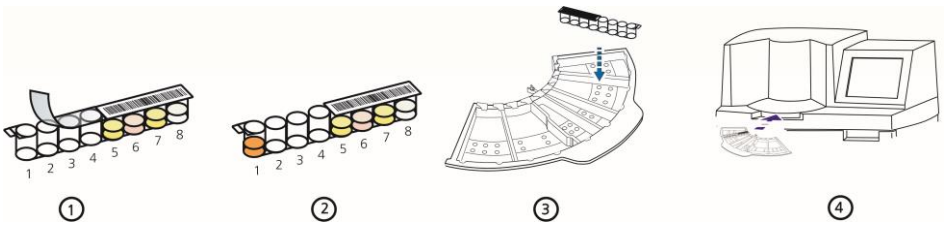
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах. Он калибруется по стороннему анализу для определения антител к циклическому цитруллинированному виментину, поскольку до сих пор не существует международных референс-сывороток для диагностики РА.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-1000 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 20 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 20 ед./мл
Повышенный результат:	> 20 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	1109,6	1105,1	99
	1:200	541,3	552,7	97
	1:400	249,5	276,4	90
	1:800	129,3	138,2	93

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2	1:100	693,2	688,4	106
	1:200	337,4	344,2	98
	1:400	160,2	172,1	93
	1:800	90,7	86,4	105
3	1:100	119,2	121,8	97
	1:200	56,8	60,9	93
	1:400	27,5	30,5	90
	1:800	14,1	15,3	92

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	33,8	2,4
2	262,5	5,8
3	994,3	8,7

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	19,9	7,3
2	106,8	7,9
3	377,8	78

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Ревматоидный артрит	100	92	92,0
Прочие виды артрита	75	2	2,7
Контроли здоровых людей	100	1	1,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 301	Пол.	92	3	
Anti-CCP hs (high sensitive)	Отр.	8	172	
		100	175	275

Чувствительность:	92.0%
Специфичность:	98.3%
Общая согласованность:	96.0 %

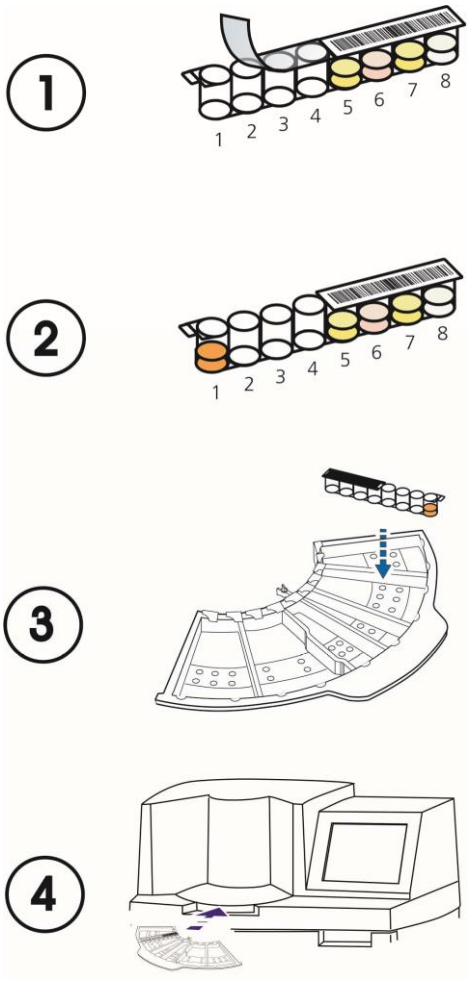
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Bang H, Egerer K, Gauliard A, et al. Mutation and citru Hi nation modifies vimentin to a novel autoantigen for rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 56(8):2503, 2007.
2. Aletaha D, et al. Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. Arthritis & Rheumatism 62 (9):2569-2581,2010.
3. Pruijn GJ, Wiik A, van Venrooij WJ. The use of citrullinated peptides and proteins for the diagnosis of rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther 12 (1):203, 2010.
4. Snir O, Widhe M, Hermansson M, von Spee C, Lindberg J, Hensen S, Lundberg K, Engstrom A, Venables PJ, Toes RE, Holmdahl R, Klareskog L, Malmstrom V. Antibodies to several citrullinated antigens are enriched in the joints of rheumatoid arthritis patients. Arthritis Rheum 62 (1):44-52, 2009.
5. Van Steendam K, Tilleman K, Deforce D. The relevance of citrullinated vimentin in the production of antibodies against citrullinated proteins and the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Rheumatology (Oxford), 2011.
6. Van Steendam K, Tilleman K, De Ceuleneer M, De Keyser F, Elewaut D, Deforce D. Citrulli-nated vimentin as an important antigen in immune complexes from synovial fluid of rheumatoid arthritis patients with antibodies against citrullinated proteins. Arthritis Res Ther 12 (4):R132, 2010.
7. Syversen SW, Goll GL, van der Heijde D, Landewe R, Lie BA, Odegard S, Uhlig T, Gaarder PI, Kvien TK. Prediction of radiographic progression in rheumatoid arthritis and the role of antibodies against mutated citrullinated vimentin: results from a ten-year prospective study. Ann.Rheum.Dis. 69 (2):345-351,2009.
8. Innala L, Kokkonen H,Eriksson C, Jidell E, Berglin E, Dahlqvst SR. Antibodies against mu-tated citrullinated vimentin are a better predictor of disease activity at 24 months in early rheumatoid arthritis than antibodies against cyclic citrullinated peptides. J Rheumatol. 36(6): 1002, 2008.
9. Mathsson L, Mullazehi M, Wick MC, et al. Antibodies against citrullinated vimentin in rheumatoid arthritis: higher sensitivity and extended prognostic value concerning future radiographic progression as compared with antibodies against cyclic citrullinated peptides. Arthritis Rheum. 58(1):36, 2008.
10. Soos L, Szekanecz Z, Szabo Z, et al. Clinical evaluation of anti-mutated citrullinated vi-mentin by ELISA in rheumatoid arthritis. J Rheumatol. 34(8): 1668, 2007.
11. Bizzaro N, Tonutti E, Tozzoli R, Villalta D. Analytical and diagnostic characteristics of 11 2nd- and 3rd-generation immunoenzymatic methods for the detection of antibodies to citrullinated proteins. Clin Chem. 53 (8):1527, 2007.
12. Coenen D, Versehueren P, Westhovens R, Bossuyt X. Technical and diagnostic perfor-mance of 6 assays for the measurement of citrullinated protein/peptide antibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis. Clin Chem. 53(3):498, 2007.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

13. Dejaco C, Klotz W, Larcher H, Duftner C, Schirmer M, Herold M. Diagnostic value of antibodies against a modified citrullinated vimentin in rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther. 8(4):R119, 2006.
14. Keskin G, Inal A, Keskin D, et al. Diagnostic utility of anti-cyclic citrullinated peptide and anti-modified citrullinated vimentin antibodies in rheumatoid arthritis. Protein Pept Lett. 15(3):314 2008.
15. Poulsom H, Charles PJ. Antibodies to citrullinated vimentin are a specific and sensitive marker for the diagnosis of rheumatoid arthritis. Clin Rev Allergy Immunol. 34(1):4 2008.
16. Song JS, Park GB, Park AJ. Comparison of anti-mutated citrullinated vimentin with anti-cyclic citrullinated peptide and rheumatoid factors for the diagnostic value of rheuma-toid arthritis [in Korean]. J Korean Rheum Assoc. 14(3):235 2007.
Ursum J, Nielen MM, van Schaardenburg D, et al. Antibodies to mutated citrullinated vimentin and disease activity score in early arthritis: a cohort study. Arthritis Res Ther. 10(1):R12, 2008.
17. Besada E, Nikolaisen C, Nossent H. Diagnostic value of antibodies against mutated citrullinated vimentin for rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol. 29(1):85 2011.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

222A_5

ORG 222A Rheumatoid Factor IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Rheumatoid Factor IgA предназначена для количественного определения антител класса IgA к ревматоидному фактору методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике ревматоидного артрита (РА), а наличие ревматоидных факторов (РФ) является неотъемлемой частью современных критериев Американской коллегии ревматологии для классификации РА. При диагностированном РА высокие титры РФ сывороточных IgG и особенно IgM свидетельствуют о неблагоприятном прогнозе. Наличие ревматоидного фактора класса IgG, либо IgA у пациентов с ранее диагностированным РА может быть прогностическим показателем системных проявлений. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
222A_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU М	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Fc-область человеческого иммуноглобулина G высокой степени очистки связываются с микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

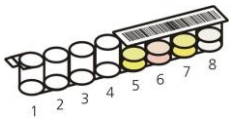
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **RF IgA** на печатной этикетке: **RF IgA**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

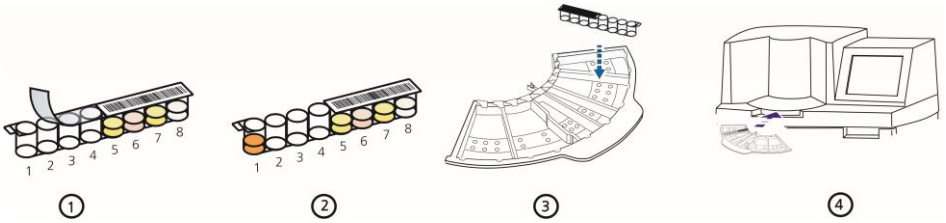
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах. Калибровка связана с 1-м Британским стандартным препаратом 64/2 для ревматоидного фактора.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-500 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 20 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 20 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 20 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	41,8	41,8	100
	1:200	21,5	20,9	103

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	9,6	10,5	92
	1:800	4,8	5,2	91
2	1:100	40,9	40,9	100
	1:200	18,3	20,5	90
	1:400	8,7	10,2	85
	1:800	4,7	5,1	92
3	1:100	400,7	400,7	100
	1:200	202,7	200,4	101
	1:400	94,6	100,2	94
	1:800	48,5	50,1	97

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	16,0	7,1
2	24,8	14,1
3	108,4	12,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	17,3	8,4
2	45,4	9,1
3	123,7	11.2

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Ревматоидный артрит	302	237	78,5
Нормальная человеческая сыворотка	169	12	7,1

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 222A	Пол.	237	12	
Rheumatoid Factor IgA	Отр.	65	157	
		302	169	471

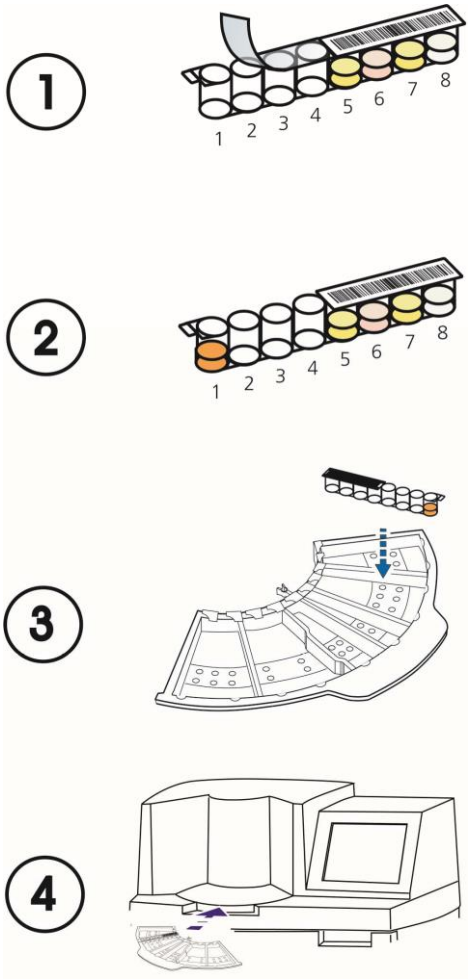
Чувствительность:	78.5 %
Специфичность:	92.9 %
Общая согласованность:	83.7 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Arinbjarnarson S., Jonsson T., Steinsson K. et al. IgA rheumatoid factor correlates with changes in B and T lymphocyte subsets and disease manifestations in rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 269-274.
2. Borretzen M., Mellbye O. J., Thompson K. M., Natvig J. B. Rheumatoid Factors. In: Peter J. B., Shoenfeld Y. eds. Autoantibodies. 1 ed. Amsterdam: Elsevier, 1996: 706-715.
3. Brown P. B., Nardella F. A., Mannik M. Human complement activation by self-associated IgG rheumatoid factors. Arthritis Rheum. 1982; 25: 1101-1107.
4. Ernst E., Espersen G. T., Andersen M. V. Grunnet N. RF-classes (IgM, IgG, IgA) in a group of highly active RA-patients in relation to disease activity and treatment. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 250-255.
5. Espersen G. T. Ernst E. Vestergaard M. Grunnet N. ELISA estimations of rheumatoid factor IgM, IgA, and IgG in sera from RA patients with high disease activity. DTT treatment studies. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 40-45.
6. Houssien D. A., Jonsson T., Davies E., Scott D .L. Clinical significance of IgA rheumatoid factor subclasses in rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 2119-2122.
7. Jonsson T., Arinbjarnarson S., Thorsteinsson J. et al. Raised IgA rheumatoid factor (RF) but not IgM RF or IgG RF is associated with extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. Scand. J. Rheumatol. 1995;24: 372 -375.
8. Kleveland G, Egeland T, Lea T. Quantitation of rheumatoid factors (RF) of IgM, IgA and IgG isotypes by a simple and sensitive ELISA. Discrimination between false and true IgG-RF. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 15 -24.
9. Mogk M., Weise I., Weicker M., Oppermann M., Helmke K. Bedeutung der Rheu-mafaktor-lmmunglobulinklassen IgG, IgA und IgM in der Diagnostik rheumatologischer und immunologischer Erkrankungen. Clin. Lab. 1995; 41: 885-891.
10. Paimela L.,Palosuo T., Leirisalo-Repo M., Helve T., Aho K. Prognostic value of quantitative measurement of rheumatoid factor in early rheumatoid arthritis. Br. J. Rheumatol. 1995; 34:1146-1150.
11. Pope R. M. Rheumatoid arthritis: pathogenesis and early recognition. Am. J. Med. 1996; 100: 3S-9S.
12. Scutellari P. N.. Orzincolo C. Rheumatoid arthritis: sequences. Eur. J. Radiol. 1998; 27 Suppl. 1: S31-S38
13. Swed 1er W., Wallman J., Froelich C. J., Teodorescu M. Routine measurement of IgM, IgG, and IgA rheumatoid factors: high sensitivity, specificity, and predictive value for rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 1037 -1044.
14. Winska W. H., Thompson K., Young A., Corbett M., Shipley M., Hay F. IgA and IgM rheumatoid factors as markers of later erosive changes in rheumatoid arthritis (RA). Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 238-243.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

222G_4

ORG 222G Rheumatoid Factor IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Rheumatoid Factor IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к ревматоидному фактору методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике ревматоидного артрита (РА), а наличие ревматоидных факторов (РФ) является неотъемлемой частью современных критериев Американской коллегии ревматологии для классификации РА. При диагностированном РА высокие титры РФ сывороточных IgG и особенно IgM свидетельствуют о неблагоприятном прогнозе. Наличие ревматоидного фактора класса IgG, либо IgA у пациентов с ранее диагностированным РА может быть прогностическим показателем системных проявлений. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
222G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU М	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Fc-область человеческого иммуноглобулина G высокой степени очистки связываются с микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

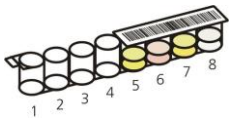
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **RF IgG** на печатной этикетке: **RF IgG**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

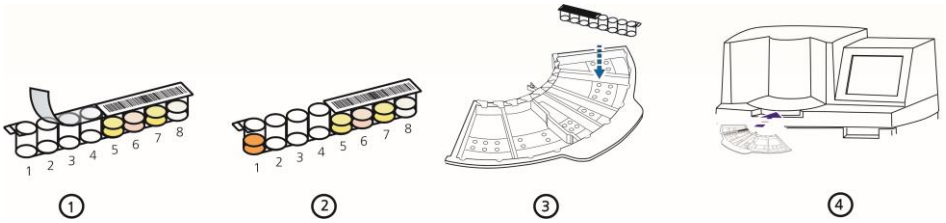
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах. Калибровка связана с 1-м Британским стандартным препаратом 64/2 для ревматоидного фактора.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-500 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 20 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 20 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 20 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	49,2	49,2	100
	1:200	24,0	24,6	98

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	10,6	12,3	86
	1:800	6,2	6,2	101
2	1:100	176,1	176,1	100
	1:200	81,8	88,1	93
	1:400	36,5	44,0	83
	1:800	23,1	22,0	105
3	1:100	109,1	109,1	100
	1:200	58,7	54,6	108
	1:400	21,7	27,3	80
	1:800	13,0	13,6	95

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	19,3	8,2
2	50,5	10,8
3	177,7	10,0

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	18,8	7,5
2	51,9	10,6
3	116,3	14,4

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Ревматоидный артрит	302	253	83,8
Нормальная человеческая сыворотка	169	15	8,9

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 222G	Пол.	253	15	
Rheumatoid Factor IgG	Отр.	49	154	
		302	169	471

Чувствительность:	83.8 %
Специфичность:	91.1 %
Общая согласованность:	86.4 %

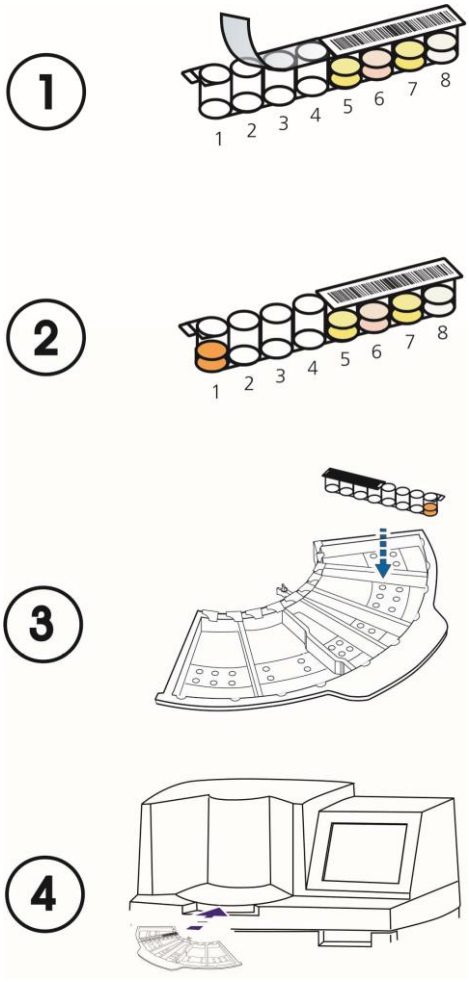
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Arinbjarnarson S., Jonsson T., Steinsson K. et al. IgA rheumatoid factor correlates with changes in B and T lymphocyte subsets and disease manifestations in rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 269-274.
2. Borretzen M., Mellbye O. J., Thompson K. M., Natvig J. B. Rheumatoid Factors. In: Peter J. B., Shoenfeld Y. eds. Autoantibodies. 1 ed. Amsterdam: Elsevier, 1996: 706-715.
3. Brown P. B., Nardella F. A., Mannik M. Human complement activation by self-associated IgG rheumatoid factors. Arthritis Rheum. 1982; 25: 1101-1107.
4. Ernst E., Espersen G. T., Andersen M. V. Grunnet N. RF-classes (IgM, IgG, IgA) in a group of highly active RA-patients in relation to disease activity and treatment. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 250-255.
5. Espersen G. T. Ernst E. Vestergaard M. Grunnet N. ELISA estimations of rheumatoid factor IgM, IgA, and IgG in sera from RA patients with high disease activity. DTT treatment studies. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 40-45.
6. Houssien D. A., Jonsson T., Davies E., Scott D .L. Clinical significance of IgA rheumatoid factor subclasses in rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 2119-2122.
7. Jonsson T., Arinbjarnarson S., Thorsteinsson J. et al. Raised IgA rheumatoid factor (RF) but not IgM RF or IgG RF is associated with extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. Scand. J. Rheumatol. 1995;24: 372 -375.
8. Kleveland G, Egeland T, Lea T. Quantitation of rheumatoid factors (RF) of IgM, IgA and IgG isotypes by a simple and sensitive ELISA. Discrimination between false and true IgG-RF. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 15 -24.
9. Mogk M., Weise I., Weicker M., Oppermann M., Helmke K. Bedeutung der Rheu-mafaktor-lmmunglobulinklassen IgG, IgA und IgM in der Diagnostik rheumatologischer und immunologischer Erkrankungen. Clin. Lab. 1995; 41: 885-891.
10. Paimela L.,Palosuo T., Leirisalo-Repo M., Helve T., Aho K. Prognostic value of quantitative measurement of rheumatoid factor in early rheumatoid arthritis. Br. J. Rheumatol. 1995; 34:1146-1150.
11. Pope R. M. Rheumatoid arthritis: pathogenesis and early recognition. Am. J. Med. 1996; 100: 3S-9S.
12. Scutellari P. N.. Orzincolo C. Rheumatoid arthritis: sequences. Eur. J. Radiol. 1998; 27 Suppl. 1: S31-S38
13. Swed 1er W., Wallman J., Froelich C. J., Teodorescu M. Routine measurement of IgM, IgG, and IgA rheumatoid factors: high sensitivity, specificity, and predictive value for rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 1037 -1044.
14. Winska W. H., Thompson K., Young A., Corbett M., Shipley M., Hay F. IgA and IgM rheumatoid factors as markers of later erosive changes in rheumatoid arthritis (RA). Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

75: 238-243.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

222M_5

ORG 222M Rheumatoid Factor IgM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Rheumatoid Factor IgM предназначена для количественного определения антител класса IgM к ревматоидному фактору методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике ревматоидного артрита (РА), а наличие ревматоидных факторов (РФ) является неотъемлемой частью современных критериев Американской коллегии ревматологии для классификации РА. При диагностированном РА высокие титры РФ сывороточных IgG и особенно IgM свидетельствуют о неблагоприятном прогнозе. Наличие ревматоидного фактора класса IgG, либо IgA у пациентов с ранее диагностированным РА может быть прогностическим показателем системных проявлений. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
8°C 2°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
222M_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Fc-область человеческого иммуноглобулина G высокой степени очистки связываются с микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

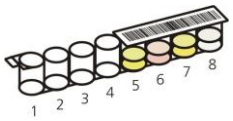
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **RF IgM** на печатной этикетке: **RF IgM**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

герметичном пакете.

- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

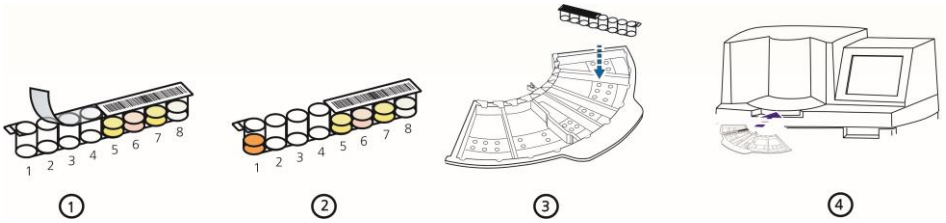
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах. Калибровка связана с 1-м Британским стандартным препаратом 64/2 для ревматоидного фактора в 100 МЕ/мл.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-500 МЕ/мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 20 МЕ/мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 20 МЕ/мл
Повышенный результат:	≥ 20 МЕ/мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		МЕ/мл	МЕ/мл	(%)
1	1:100	51,4	51,4	100
	1:200	25,6	25,7	99

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	13,2	12,9	102
	1:800	7,4	6,4	116
2	1:100	128,7	128,7	100
	1:200	63,8	64,4	99
	1:400	32,0	32,2	99
	1:800	16,5	16,1	103
3	1:100	86,2	86,2	100
	1:200	34,6	43,1	80
	1:400	17,3	21,6	80
	1:800	10,2	10,8	95

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 МЕ/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внтурианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	22,8	7,4
2	51,3	9,4
3	156,5	7,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	21,7	6,6
2	55,2	10,0
3	95,3	12,3

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Ревматоидный артрит	302	277	91,7
Нормальная человеческая сыворотка	169	12	7,1

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 222M	Пол.	277	12	
Rheumatoid Factor IgM	Отр.	25	157	
		302	169	471

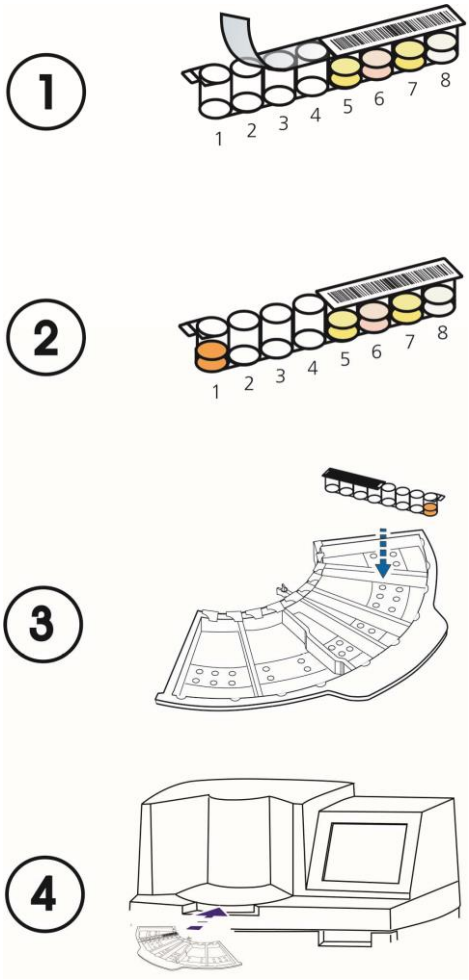
Чувствительность:	91.7 %
Специфичность:	92.9 %
Общая согласованность:	92.1 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Arinbjarnarson S., Jonsson T., Steinsson K. et al. IgA rheumatoid factor correlates with changes in B and T lymphocyte subsets and disease manifestations in rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 269-274.
2. Borretzen M., Mellbye O. J., Thompson K. M., Natvig J. B. Rheumatoid Factors. In: Peter J. B., Shoenfeld Y. eds. Autoantibodies. 1 ed. Amsterdam: Elsevier, 1996: 706-715.
3. Brown P. B., Nardella F. A., Mannik M. Human complement activation by self-associated IgG rheumatoid factors. Arthritis Rheum. 1982; 25: 1101-1107.
4. Ernst E., Espersen G. T., Andersen M. V. Grunnet N. RF-classes (IgM, IgG, IgA) in a group of highly active RA-patients in relation to disease activity and treatment. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 250-255.
5. Espersen G. T. Ernst E. Vestergaard M. Grunnet N. ELISA estimations of rheumatoid factor IgM, IgA, and IgG in sera from RA patients with high disease activity. DTT treatment studies. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 40-45.
6. Houssien D. A., Jonsson T., Davies E., Scott D .L. Clinical significance of IgA rheumatoid factor subclasses in rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 2119-2122.
7. Jonsson T., Arinbjarnarson S., Thorsteinsson J. et al. Raised IgA rheumatoid factor (RF) but not IgM RF or IgG RF is associated with extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. Scand. J. Rheumatol. 1995;24: 372 -375.
8. Kleveland G, Egeland T, Lea T. Quantitation of rheumatoid factors (RF) of IgM, IgA and IgG isotypes by a simple and sensitive ELISA. Discrimination between false and true IgG-RF. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 15 -24.
9. Mogk M., Weise I., Weicker M., Oppermann M., Helmke K. Bedeutung der Rheu-mafaktor-lmmunglobulinklassen IgG, IgA und IgM in der Diagnostik rheumatologischer und immunologischer Erkrankungen. Clin. Lab. 1995; 41: 885-891.
10. Paimela L.,Palosuo T., Leirisalo-Repo M., Helve T., Aho K. Prognostic value of quantitative measurement of rheumatoid factor in early rheumatoid arthritis. Br. J. Rheumatol. 1995; 34:1146-1150.
11. Pope R. M. Rheumatoid arthritis: pathogenesis and early recognition. Am. J. Med. 1996; 100: 3S-9S.
12. Scutellari P. N.. Orzincolo C. Rheumatoid arthritis: sequences. Eur. J. Radiol. 1998; 27 Suppl. 1: S31-S38
13. Swed1er W., Wallman J., Froelich C. J., Teodorescu M. Routine measurement of IgM, IgG, and IgA rheumatoid factors: high sensitivity, specificity, and predictive value for rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 1037 -1044.
14. Winska W. H., Thompson K., Young A., Corbett M., Shipley M., Hay F. IgA and IgM rheumatoid factors as markers of later erosive changes in rheumatoid arthritis (RA). Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 238-243.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

222S_4

ORG 222S Rheumatoid Factor Screen

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Rheumatoid Factor Screen предназначена для количественного определения (скрининга) антител класса IgG, IgA и IgM к ревматоидному фактору методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике ревматоидного артрита (РА), а наличие ревматоидных факторов (РФ) является неотъемлемой частью современных критериев Американской коллегии ревматологии для классификации РА. При диагностированном РА высокие титры РФ сывороточных IgG и особенно IgM свидетельствуют о неблагоприятном прогнозе. Наличие ревматоидного фактора класса IgG, либо IgA у пациентов с ранее диагностированным РА может быть прогностическим показателем системных проявлений. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
222S_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Fc-область человеческого иммуноглобулина G высокой степени очистки связываются с микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

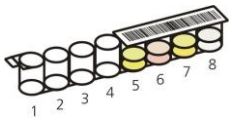
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP , антитела класса IgG, IgA и IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **RF Screen** на печатной этикетке: **RF-Scr**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

хранения и использования.

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

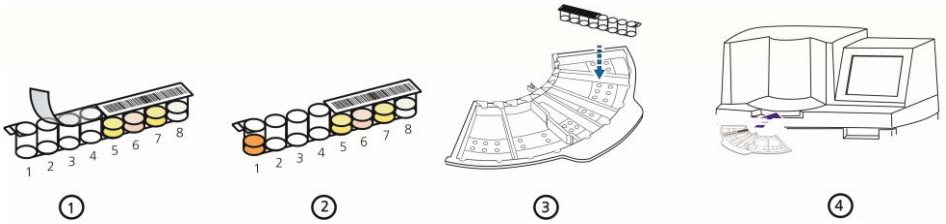
Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах. Калибровка связана с 1-м Британским стандартным препаратом 64/2 для ревматоидного фактора.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-500 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 20 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 20 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 20 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	245,4	245,4	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	119,4	122,7	97
	1:400	57,8	61,4	94
	1:800	27,2	30,7	89
2	1:100	136,4	136,4	100
	1:200	65,2	68,2	96
	1:400	30,9	34,1	91
	1:800	15,2	17,1	89
3	1:100	429,8	429,8	100
	1:200	209,2	214,9	97
	1:400	102,8	107,5	96
	1:800	50,3	53,7	94

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	20,2	5,2
2	212,3	5,5
3	289,1	5,1

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	9,7	14,0
2	25,2	12,0
3	258,0	15,0

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Ревматоидный артрит	300	288	96,0
Нормальная человеческая сыворотка	169	18	10,7

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 222S	Пол.	288	18	
Rheumatoid Factor Screen	Отр.	12	151	
		300	169	469

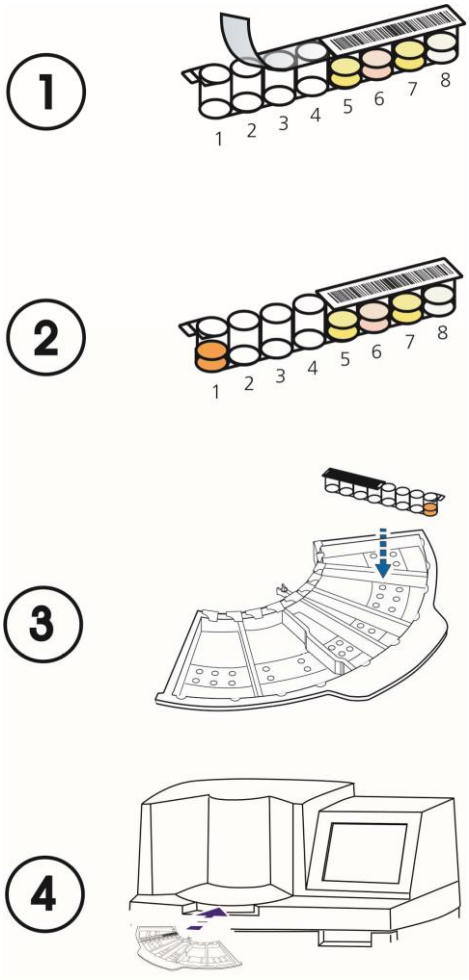
Чувствительность:	96.0 %
Специфичность:	89.3 %
Общая согласованность:	93.6 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Arinbjarnarson S., Jonsson T., Steinsson K. et al. IgA rheumatoid factor correlates with changes in B and T lymphocyte subsets and disease manifestations in rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 269-274.
2. Borretzen M., Mellbye O. J., Thompson K. M., Natvig J. B. Rheumatoid Factors. In: Peter J. B., Shoenfeld Y. eds. Autoantibodies. 1 ed. Amsterdam: Elsevier, 1996: 706-715.
3. Brown P. B., Nardella F. A., Mannik M. Human complement activation by self-associated IgG rheumatoid factors. Arthritis Rheum. 1982; 25: 1101-1107.
4. Ernst E., Espersen G. T., Andersen M. V. Grunnet N. RF-classes (IgM, IgG, IgA) in a group of highly active RA-patients in relation to disease activity and treatment. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 250-255.
5. Espersen G. T. Ernst E. Vestergaard M. Grunnet N. ELISA estimations of rheumatoid factor IgM, IgA, and IgG in sera from RA patients with high disease activity. DTT treatment studies. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 40-45.
6. Houssien D. A., Jonsson T., Davies E., Scott D .L. Clinical significance of IgA rheumatoid factor subclasses in rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 2119-2122.
7. Jonsson T., Arinbjarnarson S., Thorsteinsson J. et al. Raised IgA rheumatoid factor (RF) but not IgM RF or IgG RF is associated with extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. Scand. J. Rheumatol. 1995;24: 372 -375.
8. Kleveland G, Egeland T, Lea T. Quantitation of rheumatoid factors (RF) of IgM, IgA and IgG isotypes by a simple and sensitive ELISA. Discrimination between false and true IgG-RF. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 15 -24.
9. Mogk M., Weise I., Weicker M., Oppermann M., Helmke K. Bedeutung der Rheu-mafaktor-lmmunglobulinklassen IgG, IgA und IgM in der Diagnostik rheumatologischer und immunologischer Erkrankungen. Clin. Lab. 1995; 41: 885-891.
10. Paimela L.,Palosuo T., Leirisalo-Repo M., Helve T., Aho K. Prognostic value of quantitative measurement of rheumatoid factor in early rheumatoid arthritis. Br. J. Rheumatol. 1995; 34:1146-1150.
11. Pope R. M. Rheumatoid arthritis: pathogenesis and early recognition. Am. J. Med. 1996; 100: 3S-9S.
12. Scutellari P. N.. Orzincolo C. Rheumatoid arthritis: sequences. Eur. J. Radiol. 1998; 27 Suppl. 1: S31-S38
13. Swed 1er W., Wallman J., Froelich C. J., Teodorescu M. Routine measurement of IgM, IgG, and IgA rheumatoid factors: high sensitivity, specificity, and predictive value for rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 1037 -1044.
14. Winska W. H., Thompson K., Young A., Corbett M., Shipley M., Hay F. IgA and IgM rheumatoid factors as markers of later erosive changes in rheumatoid arthritis (RA). Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 238-243.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

205_4

ORG 205 Anti-ssDNA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-ssDNA предназначена для количественного определения антител класса IgG к одноцепочечной ДНК методом иммуноферментного анализа в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике воспалительных аутоиммунных заболеваний, в частности синдрома лекарственной волчанки. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
205_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантная человеческая одноцепочечная ДНК связывается с микролунками.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

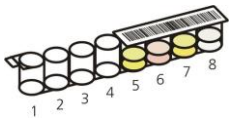
попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **sDNA** на печатной этикетке: **ss-DNA-G**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

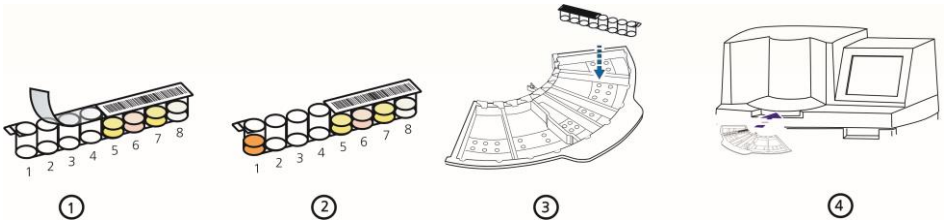
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 20 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 20 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 20 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	189,2	189,2	100
	1:200	90,3	94,6	95
	1:400	50,1	47,3	106
	1:800	21,9	23,7	93
2	1:100	163,2	163,2	100
	1:200	77,9	81,6	95

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	39,2	40,8	96
	1:800	21,1	20,4	103
3	1:100	132,1	132,1	100
	1:200	67,9	66,1	103
	1:400	32,5	33,0	98
	1:800	15,6	16,5	94

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	33,9	2,4
2	75,7	3,1
3	181,7	3,2

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	34,2	3,8
2	77,7	7,0
3	197,1	92

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Синдром лекарственной волчанки	79	28	35,4
Нормальная человеческая сыворотка	315	6	1,9

		Клинический диагноз	
		Пол.	Отр.
ORG 205	Пол.	28	6
Anti-ssDNA	Отр.	51	309
		79	315

394

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Чувствительность:	35.4%
Специфичность:	98.1 %
Общая согласованность:	85.5 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Condemi, John J. The Autoimmune Diseases. The Journal of the American Medical Associason 1987; Vo. 258, no. 20: 2920-2929.
2. Harley, John B. and Gaither, Kimberley K. Autoantibodies. Rheumatic Disease Clines of Norht America 1988; Vo. 14, no. 1:43-56.
3. Hartung, K, and Deicher, H. Systemischer Lupus erythematodes. Allergologie 1985; Jahrgang 8, Nr. 7: 275 - 281.
4. Feltkamp, T. E. W. et al. The first international standard for antibodies to double stranded DNA. Annals of the Rheumatic Diseases 1988; Vo. 47: 740 - 746.
5. Leon, S. A. et al. Avidity of Antibodies in SLE. Arthritis and Rheumatism 1977; Vo. 20, no.1: 23 - 29.
6. Smeenk, R. et al. Avidity of Antibodies to dsDNA: Comparison of I FT on Crithidia Luciliae, Farr Assay andPEG Assay. The Journal of Immunology 1982, Vo. 128, no. 1: 73 - 78.
7. Smeenk, R. et al. Specificity in Systemic Lupus Erythematosus of Antibodies to doublestranded DNA measured with the Polyethylene Glycol Precipitation Assay. Arthritis and Rheumatism 1982; Vo. 25, no. 6: 631 - 638.
8. Egner, W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. J. Clin. Pathol., 2000, 53:424-432.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):

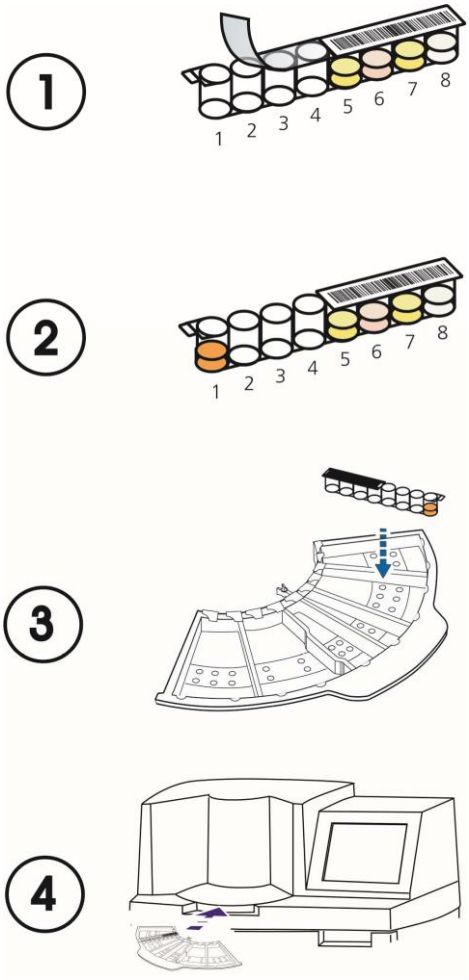
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями

Предыдущая версия: *ORG 205_IFU_EN_QM113049_2014-06-26_2*

Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

208_4

ORG 208 Anti-SS-A

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-SS-A предназначена для количественного определения антител к антигену SS-A методом иммуноферментного анализа в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Данный анализ полезен для дифференциальной диагностики и мониторинга системных ревматических воспалительных аутоиммунных заболеваний. Аутоантитела к двум антигенам SS-A 52 и SS-A 60 преимущественно обнаруживаются при наличии синдрома Шегрена. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
2	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
208_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Антиген SS-A (52 а 60 кДа) высокой степени очистки связыва.тс с микролунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

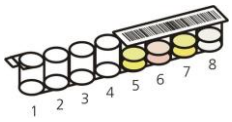
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **SS-A** на печатной этикетке: **SS-A**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

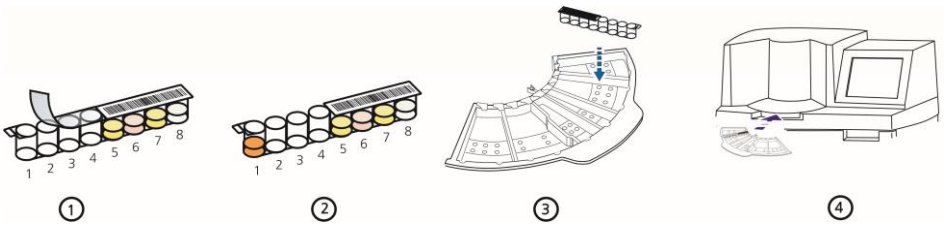
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 25 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 15 ед/мл
Пороговое значение	15- 25 ед/мл
Повышенный результат:	≥ 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	130,9	130,9	100
	1:200	64,2	65,5	98
	1:400	31,6	32,7	97

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:800	17,0	16,4	104
2	1:100	152,6	152,6	100
	1:200	74,0	76,3	97
	1:400	39,1	38,2	102
	1:800	18,7	19,1	98
3	1:100	172,3	172,3	100
	1:200	87,2	86,2	101
	1:400	41,3	43,1	96
	1:800	20,3	21,5	94

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внтурианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	86,5	3,8
2	127,9	3,1
3	162,7	2,1

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	90,4	5,4
2	132,4	5,1
3	168,7	48

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Синдром Шегрена	70	51	72,9
Нормальная человеческая сыворотка	100	6	6,0

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 208	Пол.	51	6	
Anti-SS-A	Отр.	19	94	
		70	100	170

Чувствительность:	72.9%
Специфичность:	94.0 %
Общая согласованность:	85.3 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. На и g bro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are

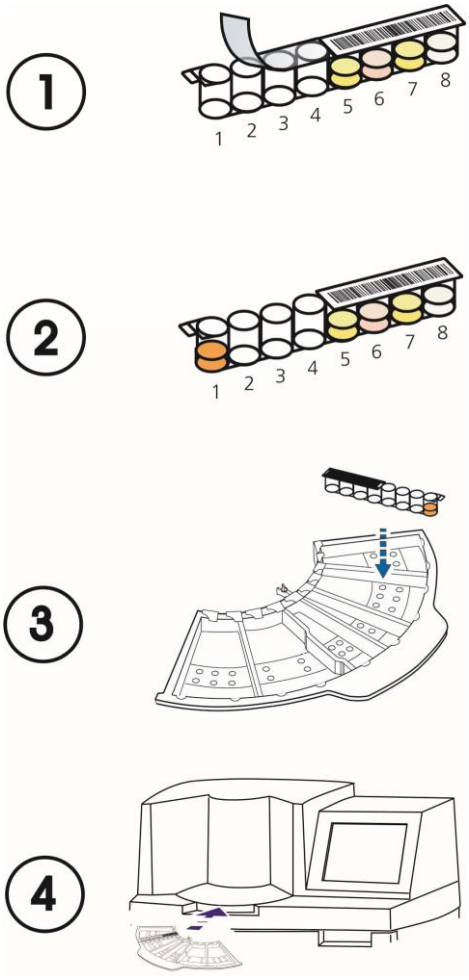
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 208_IFU_EN_QM113052_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

209_4

ORG 209 Anti-SS-B

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-SS-B предназначена для количественного определения антител класса IgG к SS-B методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Определение антител к антигену SS-B используется для дифференциальной диагностики и мониторинга системных воспалительных аутоиммунных заболеваний. Аутоантитела к белку SS-B обычно обнаруживаются вместе с антителами к SS-A при наличии синдрома Шегрена. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
2	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
209_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Антиген SS-B высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

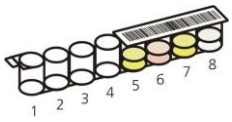
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **SS-B** на печатной этикетке: **SS-B**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

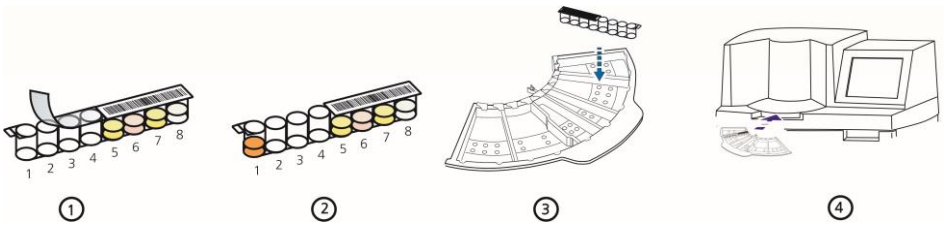
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 25 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 15 ед/мл
Пороговое значение	15- 25 ед/мл
Повышенный результат:	≥ 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	123,7	123,7	100
	1:200	64,6	61,9	104
	1:400	33,2	30,9	107
	1:800	16,6	15,5	107
2	1:100	100,8	100,8	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	53,6	50,4	106
	1:400	23,9	25,2	95
	1:800	11,8	12,6	94
3	1:100	112,3	112,3	100
	1:200	58,7	56,2	105
	1:400	29,3	28,1	104
	1:800	12,6	14,0	90

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	32,2	3,3
2	75,7	1,8
3	220,9	1,7

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	32,2	2,6
2	75,3	3,8
3	224,4	52

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Синдром Шегрена	70	43	61,4
Ревматоидный артрит	20	1	5,0
Нормальная человеческая сыворотка	100	4	4,0

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 209	Пол.	43	5	
Anti-SS-B	Отр.	27	115	
		70	120	190

Чувствительность:	61.4%
Специфичность:	95.8 %
Общая согласованность:	83.2%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. На и g bro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.

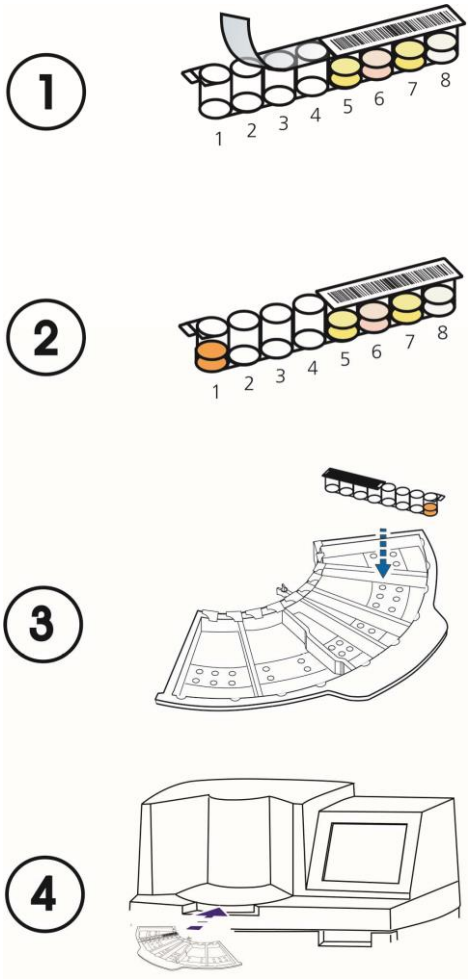
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 209_iFU_EN_QM113053_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

210_4

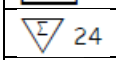
ORG 210 Anti-Sm

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система **Anti-Sm** предназначена для количественного определения антител к антигену Sm методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Определение аутоантител к белкам Sm является одним из компонентов многопараметрических критериев Американской коллегии ревматологии для диагностики системной красной волчанки (СКВ). Обнаружение антител к Sm является прогностическим маркером СКВ. Существует связь между образованием антител к белкам Sm и тяжелыми органными проявлениями заболевания. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
210_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU М	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Антиген Sm высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

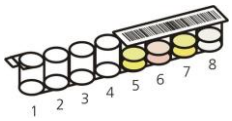
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Sm** на печатной этикетке: **Sm**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

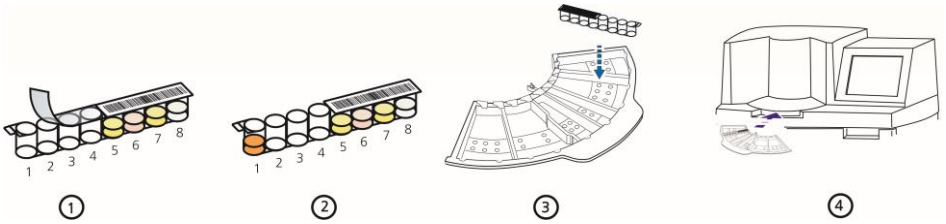
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 25 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 15 ед/мл
Пороговое значение	15- 25 ед/мл
Повышенный результат:	≥ 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	130,9	130,9	100
	1:200	64,2	65,5	98

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	31,6	32,7	97
	1:800	17,0	16,4	104
2	1:100	152,6	152,6	100
	1:200	74,0	76,3	97
	1:400	39,1	38,2	102
	1:800	18,7	19,1	98
3	1:100	172,3	172,3	100
	1:200	87,2	86,2	101
	1:400	41,3	43,1	96
	1:800	20,3	21,5	94

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	86,5	3,8
2	127,9	3,1
3	162,7	2,1

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	90,4	5,4
2	132,4	5,1
3	168,7	48

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Системная красная волчанка	70	36	51,4
Ревматоидный артрит	20	3	15,0
Нормальная человеческая сыворотка	100	2	2,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 210	Пол.	36	5	
Anti- Sm	Отр.	34	115	
		70	120	190

Чувствительность:	51.4%
Специфичность:	95.8 %
Общая согласованность:	79.5 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. На и g bro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus

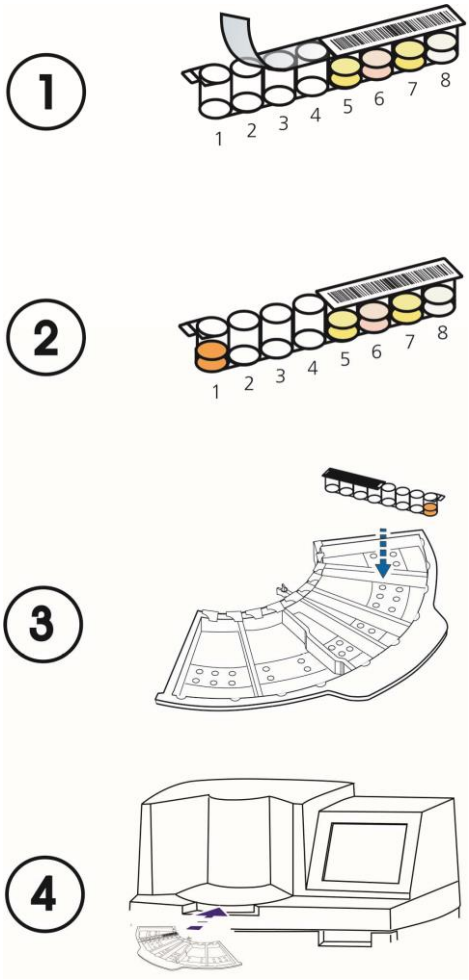
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2011; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 210_IFU_EN_QM113054_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

211_4

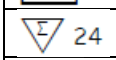
ORG 211 Anti-RNP/Sm

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-RNP/Sm предназначена для количественного определения антител к антигенам RNP/ Sm методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антитела к комплексу RNP/Sm служат для диагностики смешанного заболевания соединительной ткани (СЗСТ, синдром Шарпа) и связанных с ним аутоиммунных заболеваний. Антитела к белку массой 70 кДа данного комплекса являются очень специфичным маркером синдрома Шарпа. Белки Sm распознаются антителами, которые могут возникать при смешанном заболевании соединительной ткани и системной красной волчанке. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
211_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Антиген RNP/Sm высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

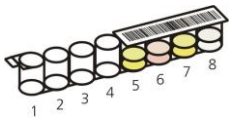
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **RNP/Sm** на печатной этикетке: **RNP/Sm**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

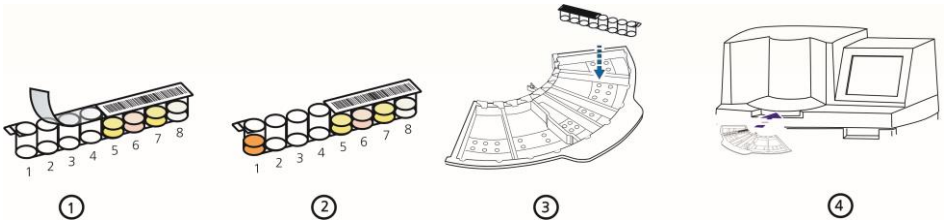
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 25 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 15 ед/мл
Пороговое значение	15- 25 ед/мл
Повышенный результат:	≥ 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	190,1	190,1	100
	1:200	96,2	95,1	101

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	46,1	47,5	97
	1:800	25,3	23,8	106
2	1:100	160,5	160,5	100
	1:200	79,5	80,3	99
	1:400	42,9	40,1	107
	1:800	18,6	20,1	93
3	1:100	150,1	150,1	100
	1:200	77,2	75,1	103
	1:400	40,5	37,5	108
	1:800	17,5	18,8	93

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внтурианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	39,2	4,0
2	66,1	1,5
3	100,8	3,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	29,5	4,2
2	46,2	3,7
3	118,4	66

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Системная красная волчанка	70	37	52,9
Смешанное заболевание соединительной ткани	30	29	96,7
Ревматоидный артрит	20	3	15,0
Нормальная человеческая сыворотка	100	2	2,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 211	Пол.	66	5	
Anti-RNP/Sm	Отр.	34	115	
		100	120	220

Чувствительность:	66.0 %
Специфичность:	95.8 %
Общая согласованность:	82.3 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. На и g bro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.

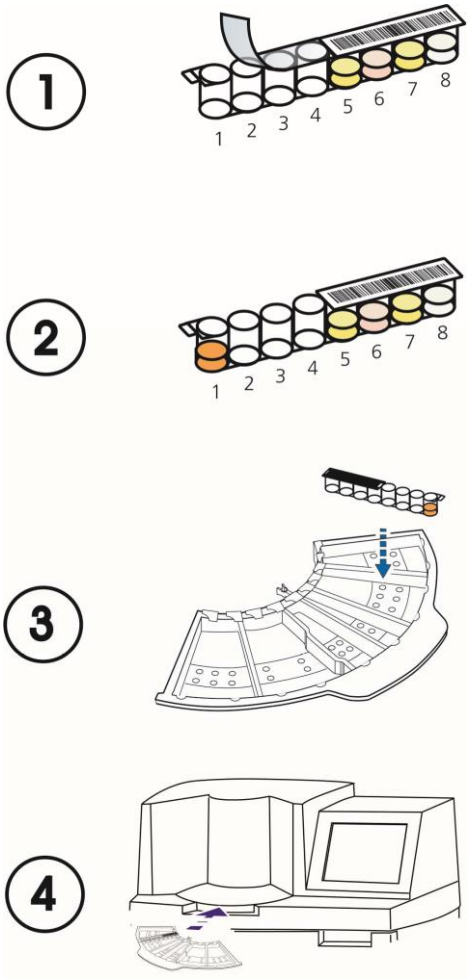
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 211_IFU_EN_QM113055_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

212_4

ORG 212 Anti-Scl-70

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Scl-70 предназначена для количественного определения антител к антигену Scl-70 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Антитела к Scl-70 (ДНК-топоизомераза I) являются признанным маркером прогрессирующей системной склеродермии. Они служат для диагностики склеродермии. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
212_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Антиген Scl-70 высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

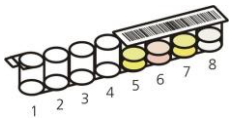
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Scl-70** на печатной этикетке: **Scl-70**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

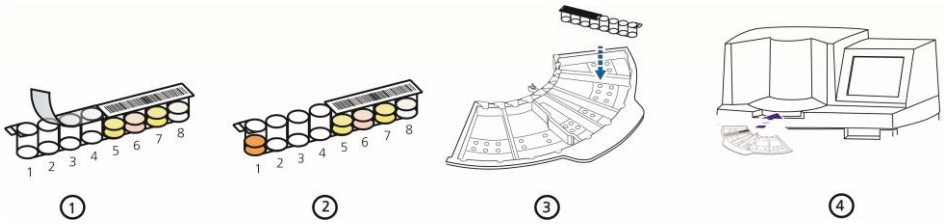
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 25 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 15 ед/мл
Пороговое значение	15- 25 ед/мл
Повышенный результат:	≥ 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	146,9	146,9	100
	1:200	76,3	73,5	104
	1:400	38,1	36,7	104
	1:800	18,8	18,4	102
2	1:100	122,3	122,3	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	60,4	61,2	99
	1:400	29,6	30,6	97
	1:800	14,8	15,3	97
3	1:100	113,7	113,7	100
	1:200	59,2	56,9	104
	1:400	26,7	28,4	94
	1:800	13,1	14,2	92

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	44,4	5,8
2	71,5	7,1
3	173,3	5,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	39,8	4,7
2	64,5	8,9
3	113,0	70

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Склеродермия	25	19	76,0
Ревматоидный артрит	20	0	0,0
Нормальная человеческая сыворотка	80	1	1,3

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 212	Пол.	19	1	
Anti-Scl-70	Отр.	6	99	
		25	100	125

Чувствительность:	76.0 %
Специфичность:	99.0 %
Общая согласованность:	94.4 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. На и g bro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.

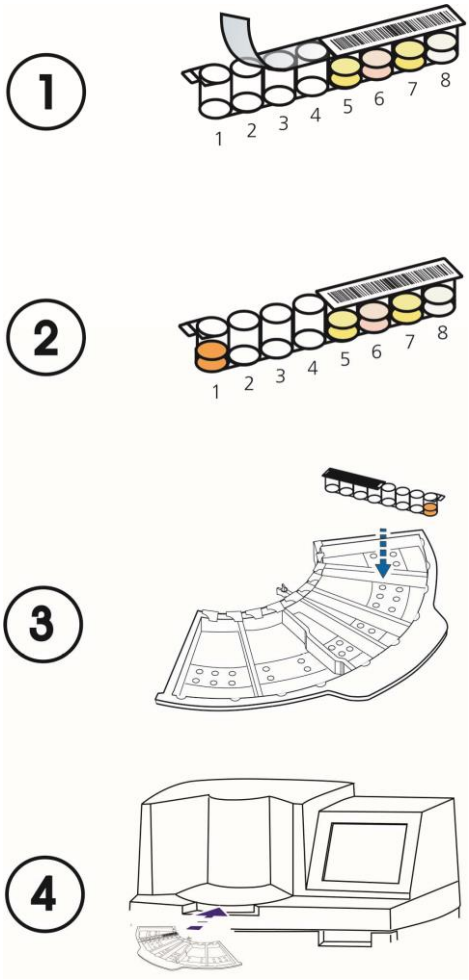
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 212IFU_EN_QM113056_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

213_4

ORG 213 Anti-Jo-1

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Jo-1 предназначена для количественного определения антител к антигену Jo-1 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике аутоиммунных заболеваний соединительной ткани, в частности полимиозита и дерматомиозита. У пациентов, страдающих от миозита, аутоантитела к антигену Jo-1 могут указывать на наличие антисинтетазного синдрома. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
213_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Антиген Jo-1 высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

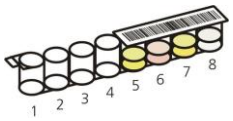
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Jo-1** на печатной этикетке: **Jo-1**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

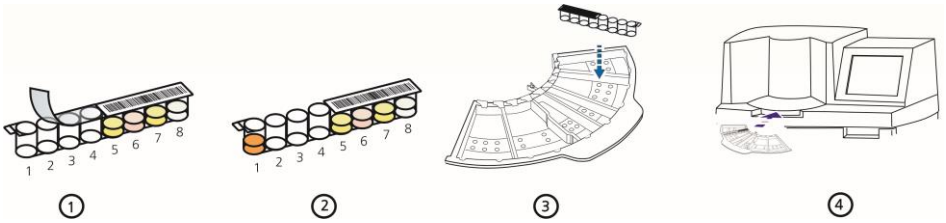
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 25 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 15 ед/мл
Пороговое значение	15- 25 ед/мл
Повышенный результат:	≥ 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	180,9	180,9	100
	1:200	93,5	90,5	103
	1:400	46,8	45,2	103

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:800	20,5	22,6	91
2	1:100	150,6	150,6	100
	1:200	78,1	75,3	104
	1:400	40,2	37,7	107
	1:800	16,9	18,8	90
3	1:100	120,9	120,9	100
	1:200	62,5	60,5	103
	1:400	28,9	30,2	96
	1:800	16,6	15,1	110

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	31,0	3,0
2	62,8	1,0
3	153,4	3,0

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	31,3	2,9
2	64,0	3,6
3	153,1	54

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Полимиозит	25	9	36,0
Дерматомиозит	16	5	31,3
Нормальная человеческая сыворотка	80	3	3,8

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 213	Пол.	14	3	
Anti-Jo-1	Отр.	27	77	
		41	80	121

Чувствительность:	34.1 %
Специфичность:	96.3 %
Общая согласованность:	75.2 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. На и g bro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.

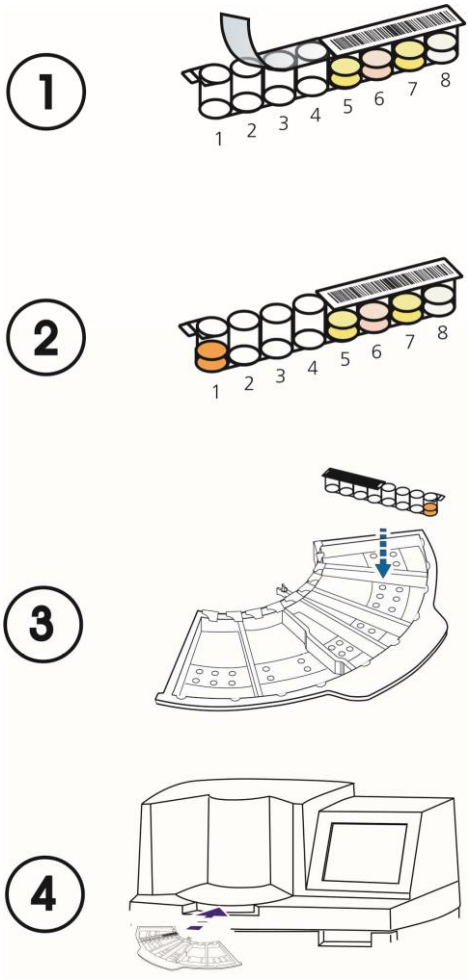
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 213_IFU_EN_QM113057_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

217_4

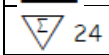
ORG 217 Anti-Rib-P

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Rib-P предназначена для количественного определения антител к рибосомальному белку методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антитела к рибосомальным белкам имеют особую клиническую значимость в дифференциальной диагностике системной красной волчанки (СКВ). Определение антител к рибосомальным Р-белкам имеет значение в дифференциальной диагностике СКВ, особенно в случаях, когда антитела к антигенам Sm и двухцепоечной ДНК отсутствуют. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
217_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Рибосомальный белок высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

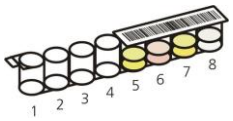
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Rib-P** на печатной этикетке: **Rib-P**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

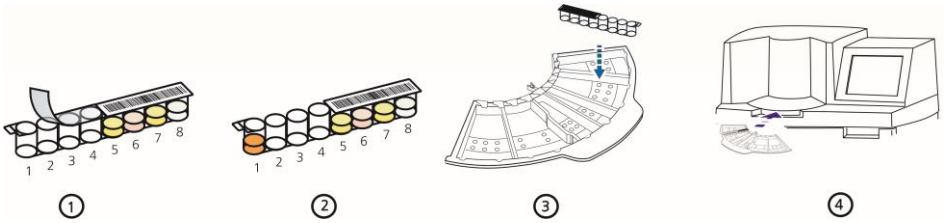
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	175,6	175,9	100
	1:200	86,3	88,0	98
	1:400	44,9	44,0	102
	1:800	21,5	22,0	98
2	1:100	121,5	121,5	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	61,3	60,8	101
	1:400	31,9	30,4	105
	1:800	14,6	15,2	96
3	1:100	76,9	76,9	100
	1:200	39,2	38,5	102
	1:400	18,9	19,2	98
	1:800	9,3	9,6	97

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внтурианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	138,2	5,8
2	65,1	2,8
3	25,2	1,6

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	125,3	9,5
2	63,5	7,2
3	25,6	45

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Системная красная волчанка	70	19	27,1
Болезнь Грейвса	17	0	0,0
Гранулематоз Вегенера	10	0	0,0
Нормальная человеческая сыворотка	100	6	6,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 217	Пол.	19	6	
Anti-Rib-P	Отр.	51	121	
		70	127	197

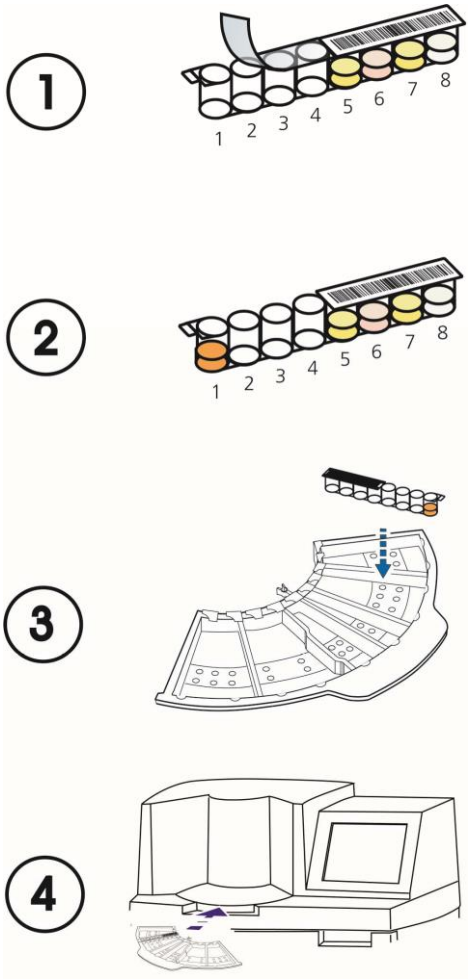
Чувствительность:	27.1 %
Специфичность:	95.3 %
Общая согласованность:	71.1 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Bonfa, E.; Viana, V. S.; Barreto, A. C.; Yoshinari, N. H. and Cossermelli, W. Autoantibodies in Chagas' disease. An antibody cross-reactive with human and Trypanosoma cruzi ribosomal proteins. J. Immunol. 1993; May 1, 150 (9): 3917-23.
2. Hay, E. M. and Isenberg, D. A. Autoantibodies in central nervous system lupus. Br. J. Rheumatol. 1993; Apr, 32 (4): 329-32.
3. Teh, L. S.; Hay, E. M.; Amos, N.; Black, D.; Huddy, A.; Creed, F.; Bernstein, R. M.; Holt, P. J. and Williams, B. D. Anti-P antibodies are associated with psychiatric and focal cerebral disorders in patients with systemic lupus erythematosus. Br. J. Rheumatol. 1993; Apr, 32 (4): 287-90.
4. Nojima, Y.; Minota, S.; Yamada, A.; Takaku, F.; Aotsuka, S. and Yokohari, R. Correlation of antibodies to ribosomal P protein with psychosis in patients with systemic lupus erythematosus. Ann. Rheum. Dis. 1992; Sep, 51(9): 1053-5.
5. Elkon, K. B.; Bonfa, E. and Brot, N. Antiribosomal antibodies in systemic lupus erythematosus. Rheum. Dis. Clin. North Am. 1992; May, 18 (2): 377-90.
6. Skeiky, Y. A.; Benson, D. R.; Parsons, M.; Elkon, K. B. and Reed, S.G. Cloning and expression of Trypanosoma cruzi ribosomal protein P0 and epitope analysis of anti-PO autoantibodies in Chagas' disease patients. J. Exp. Med. 1992; Jul 1, 176 (1): 201-11.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

232_5

ORG 232 Anti-RNP-70

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-RNP-70 предназначена для количественного определения антител к антигену RNP-70 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антиген RNP-70, белок с молекулярной массой 70 кДа комплекса U1-snRNP, является одним из экстрагируемых ядерных антигенов (ENA). Определение данных антител служит для диагностики смешанного заболевания соединительной ткани (СЗСТ, синдром Шарпа) и связанных аутоиммунных заболеваний. До 100% пациентов, страдающих от СЗСТ, имеют высокие титры анти-RNP-70 аутоантител. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
2	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
232_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Антиген RNP 70 высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

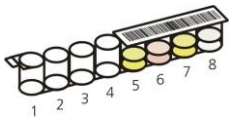
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Pariet Cell** на печатной этикетке: **Parietal**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

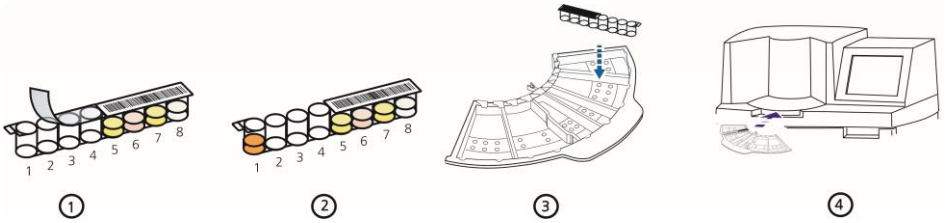
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 25 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 25 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	190,1	190,1	100
	1:200	96,2	95,1	101
	1:400	46,1	47,5	97
	1:800	25,3	23,8	106

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2	1:100	160,5	160,5	100
	1:200	79,5	80,3	99
	1:400	42,9	40,1	107
	1:800	18,6	20,1	93
3	1:100	150,1	150,1	100
	1:200	77,2	75,1	103
	1:400	40,5	37,5	108
	1:800	17,5	18,8	93

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	39,2	4,0
2	66,1	1,5
3	100,8	3,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	29,5	4,2
2	46,2	3,7
3	118,4	66

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Системная красная волчанка	70	37	52,9
Смешанное заболевание соединительной ткани	30	29	96,7
Ревматоидный артрит	20	3	15,0
Нормальная человеческая сыворотка	100	2	2,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 232	Пол.	66	5	
Anti-RNP-70	Отр.	34	115	
		100	120	220

Чувствительность:	66.0 %
Специфичность:	95.8 %
Общая согласованность:	82.3 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. На и g bro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.

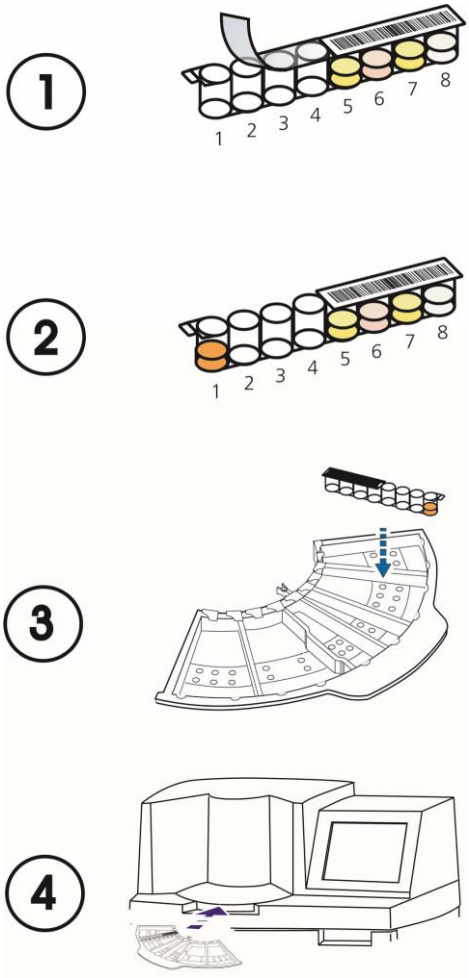
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 232_IFU_EN_QM113084_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице, редакционная правка

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

233_4

ORG 233 Anti-Centromere B

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Centromere B предназначена для количественного определения антител класса IgG к центромере B методом иммуноферментного анализа в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике воспалительных аутоиммунных заболеваний, в частности КРЕСТ-синдрома. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
233_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантный центромерный белок B связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

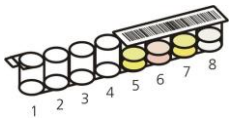
попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Centromere B** на печатной этикетке: **Centro-B**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

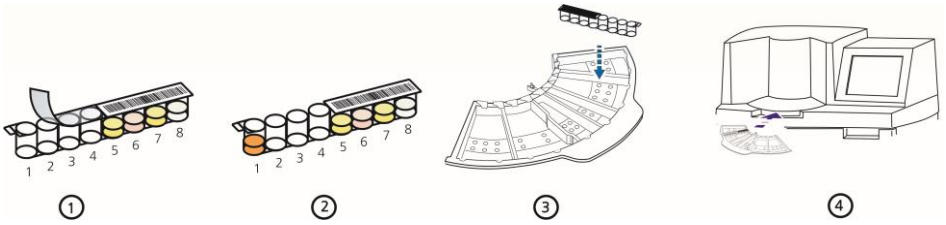
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-300 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	54,5	54,5	100
	1:200	21,5	27,3	79
	1:400	10,9	13,6	80
	1:800	6,3	6,8	93
2	1:100	199,7	199,7	100
	1:200	100,8	99,9	101
	1:400	48,7	49,9	98

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:800	23,0	25,0	92
3	1:100	104,2	104,2	100
	1:200	55,1	52,1	106
	1:400	24,5	26,1	94
	1:800	12,1	13,0	93

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	13,6	5,0
2	82,4	8,9
3	180,5	8,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	13,9	7,5
2	72,2	12,0
3	171,8	94

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
КРЕСТ-синдром	32	31	96,9
Ревматоидный артрит	20	1	5,0
Нормальная человеческая сыворотка	100	6	6,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 233	Пол.	31	7	
Anti-Centromere B	Отр.	1	113	
		32	120	152

Чувствительность:	96.9 %
Специфичность:	94.2 %
Общая согласованность:	94.7 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. На и g bro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.

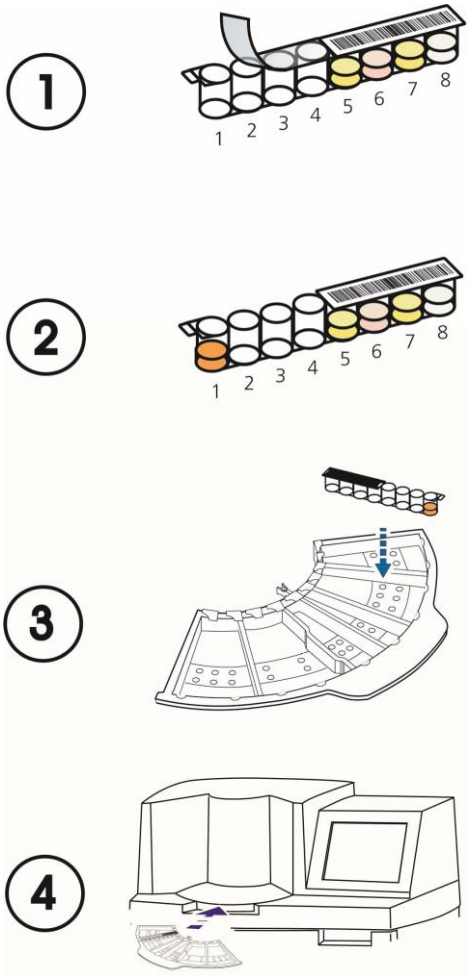
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 233_IFU_EN_QM113085_2016-08-16_3.*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице, редакционная правка

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

252_4

ORG 252 Anti-SS-A 52

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-SS-A 52 предназначена для количественного определения антител класса IgG к SS-A 52 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Данный анализ полезен для дифференциальной диагностики и мониторинга системных ревматических воспалительных аутоиммунных заболеваний. Аутоантитела к двум антигенам SS-A 52 и SS-A 60 преимущественно обнаруживаются при наличии синдрома Шегрена. Оценка результата аналиха всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
252_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Антиген SS- A 52 высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

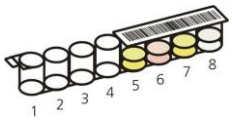
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **SS-A52** на печатной этикетке: **SS-A52**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

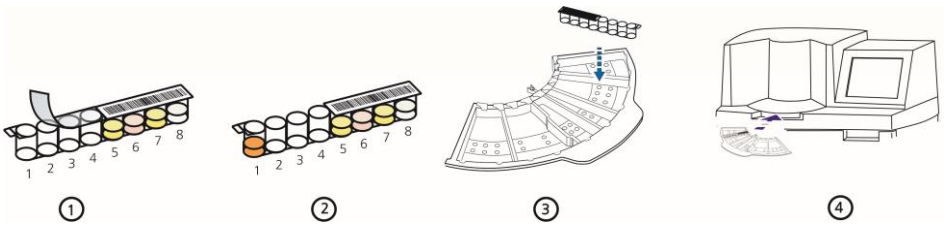
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 25 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 15 ед./мл
Пороговое значение	15- 25 ед/мл
Повышенный результат:	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	176,9	176,9	100
	1:200	90,2	88,5	102
	1:400	43,6	44,2	99
	1:800	22,6	22,1	102

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2	1:100	81,0	81,0	100
	1:200	41,0	40,5	101
	1:400	19,7	20,3	97
	1:800	10,3	10,1	102
3	1:100	36,5	36,5	100
	1:200	18,6	18,3	102
	1:400	9,0	9,1	99
	1:800	4,5	4,6	99

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	21,7	5,0
2	48,5	4,0
3	92,7	1,2

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	20,8	7,9
2	47,5	6,2
3	85,5	7 1

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Синдром Шегрена	70	48	68,6
Нормальная человеческая сыворотка	100	3	3,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 252	Пол.	48	3	
Anti-SS-A 52	Отр.	22	97	
		70	100	170

Чувствительность:	68.6%
Специфичность:	97.0%
Общая согласованность:	85.3 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011 ; 13(1):R30.
7. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011 ; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7): 1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.

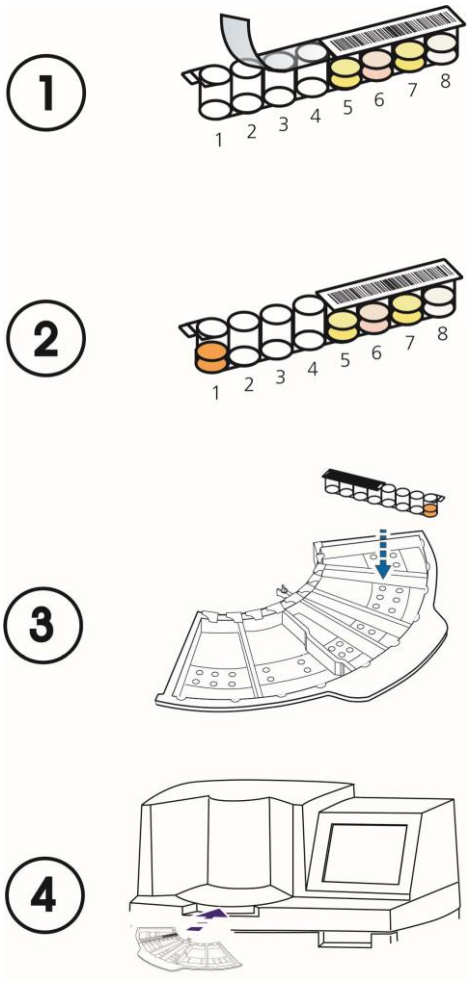
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverviewof the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 252_IFU_EN_QM113116_2016-02-01_2.1*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

260_4

ORG 260 Anti-SS-A 60

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-SS-A 60 предназначена для количественного определения антител класса IgG к SS-A 60 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Данный анализ полезен для дифференциальной диагностики и мониторинга системных ревматических воспалительных аутоиммунных заболеваний. Аутоантитела к двум антигенам SS-A 52 и SS-A 60 преимущественно обнаруживаются при наличии синдрома Шегрена. Оценка результата аналиха всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
260_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Антиген SS-A 60 высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

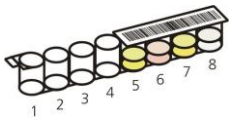
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **SS-A60** на печатной этикетке: **SS-A60**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

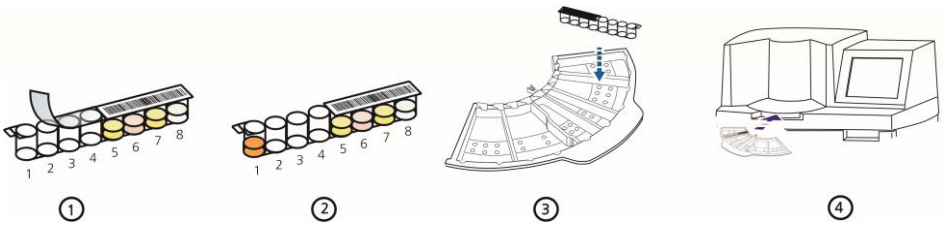
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 25 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 15 ед./мл
Пороговое значение	15- 25 ед/мл
Повышенный результат:	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	182,3	182,3	100
	1:200	93.0	91,2	102
	1:400	46,1	45,6	101
	1:800	22,4	22,8	98

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2	1:100	126,9	126,9	100
	1:200	64,5	63,5	102
	1:400	31,1	31,7	98
	1:800	16,1	15,9	101
3	1:100	97,2	97,2	100
	1:200	48,9	48,6	101
	1:400	24,6	24,3	101
	1:800	12,0	12,2	99

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	20,5	3,8
2	79,2	3,9
3	33,8	9,1

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	21,2	5,8
2	73,8	7,5
3	175,4	57

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Синдром Шегрена	65	46	70,8
Нормальная человеческая сыворотка	100	3	3,0

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 260	Пол.	46	3	
Anti-SS-A 60	Отр.	19	97	
		65	100	165

Чувствительность:	70.8%
Специфичность:	97.0%
Общая согласованность:	86.7%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001 ; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011 ; 13(1):R30.
7. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011 ; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7): 1052-1056.

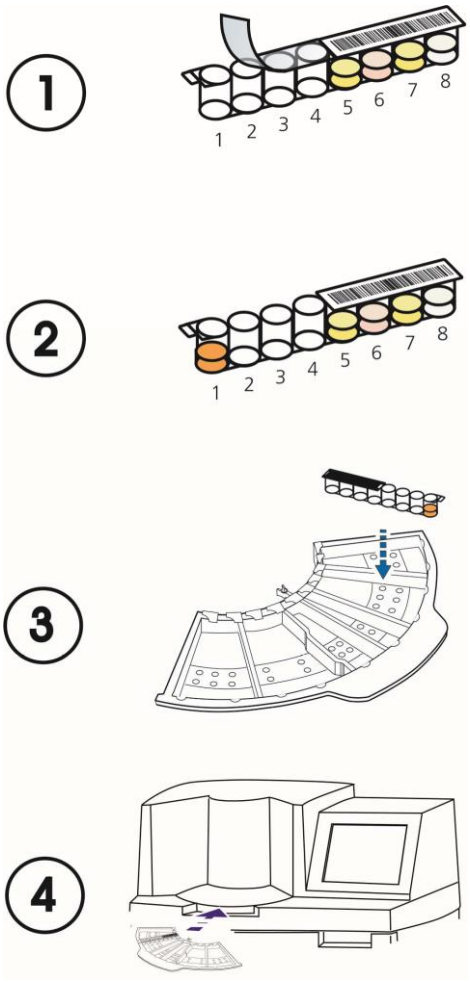
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Veite CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sei 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?—The routine use of anti-nuclear antibody screening ELIS As. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverviewof the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 260_IFU_EN_QM113121 _2016-02-01_2.1*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

247_4

ORG 247 Anti-Intrinsic Factor

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Intrinsic Factor предназначена для количественного определения антител класса IgG к внутреннему фактору методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Аутоантитела к внутреннему фактору обнаруживаются у больных пернициозной анемией. Обнаружение данных антител является полезным инструментом в дифференциальной диагностике пернициозной анемии.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
247_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантный внутренний фактор человека связывается с микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

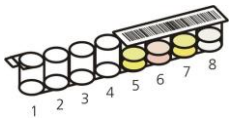
попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Intrin Factor** на печатной этикетке: ***Anti-IF***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

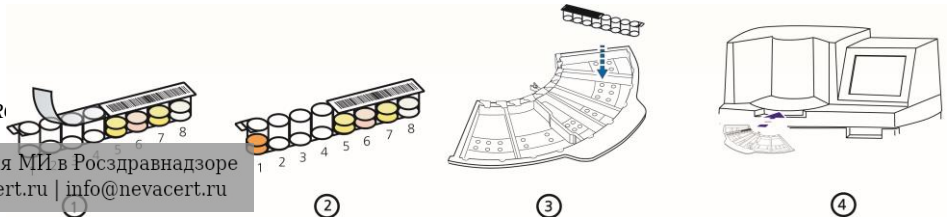
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 6 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 6 ед./мл
Повышенный результат:	> 6 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	84,2	84,2	100
	1:200	44,2	42,1	105
	1:400	23,8	21,1	113
	1:800	11,1	10,5	105
2	1:100	65,1	65,1	100
	1:200	31,9	32,6	98
	1:400	15,2	16,3	93

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:800	6,9	8,1	85
3	1:100	61,9	61,9	100
	1:200	28,4	31,0	92
	1:400	13,8	15,5	89
	1:800	*7,2*	*7,7*	93

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	15,1	3,2
2	50,0	1,1
3	94,6	1,7

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	14,8	5,9
2	50,4	3,8
3	95,0	20

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция		n	**n pos**	%
Перниционзная анемия		85	52	61,2
Нормальная человеческая сыворотка	100		5	5,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 247	Пол.	52	5	
Anti-Intrinsic Factor	Отр.	33	95	
		85	100	185

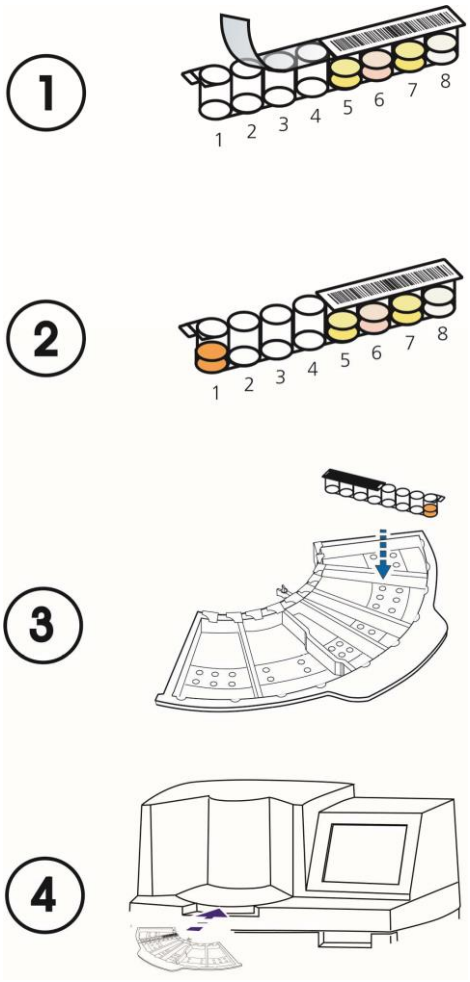
Чувствительность:	61.2%
Специфичность:	95.0%
Общая согласованность:	79.5 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Gleeson, P.A., and B.-H. Toh. Molecular targets in pernicious anaemia. Immun. Today, 1991, 12(7):233-238.
2. Beck, W.S. Neuropsychiatrie Consequences of Cobalamin Deficiency. Adv. Inter. Med. 1991, 33-56.
3. OH R, Brown D. L. Vitamin B12 deficiency. Am Fam Physician. 2003, 67(5): 979-986.
4. Seetharam, B., S. Bose, and N. Li. Cellular Import of Cobalamin (Vitamin B-12). J. Nutr., 1999, 129:1761-1764.
5. Schade, S.G., P.L. Feick, M.H. Imrie, and R.F. Schilling. In vitro studies on antibodies to intrinsic factor. Clin. Exp. Immunol. 1967,2:399-413.
6. Carmel, R. Reassessment of the relative prevalence of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. Clin. Exp. Immunol., 1992, 89:74-77.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

231_4

ORG 231 Anti-Parietal Cell

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Parietal Cell предназначена для количественного определения антител класса IgG к альфа- и бета-субъединицам H+/K+-АТФазы париетальных клеток методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Циркулирующие аутоантитела к париетальным клеткам желудка впервые обнаружены у пациентов с пернициозной анемией, наиболее распространенной причиной дефицита витамина B12 в западных популяциях. Обнаружение данных антител является полезным инструментом в дифференциальной диагностике пернициозной анемии.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
231_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Париетальные клетки Н+/К+-АТФаза свиньи высокой степени очистки связываются с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

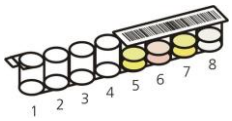
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Pariet Cell** на печатной этикетке: **Parietal**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

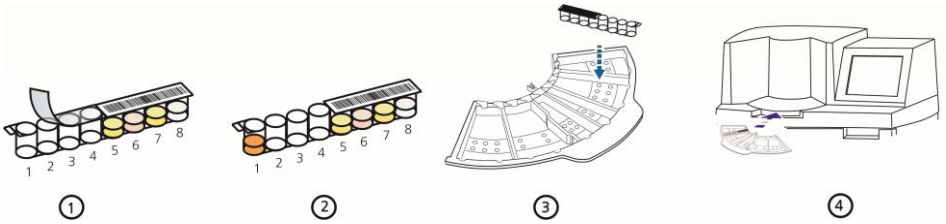
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	88,5	88,5	100
	1:200	43,1	44,3	97
	1:400	20,9	22,1	94
	1:800	12,7	11,1	115

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2	1:100	93,6	93,6	100
	1:200	44,2	46,8	94
	1:400	25,6	23,4	109
	1:800	13,6	11,7	116
3	1:100	80,1	80,1	100
	1:200	37,9	40,1	95
	1:400	21,2	20,0	106
	1:800	9,8	10,0	98

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,3	1,5
2	23,7	0,5
3	94,3	4,2

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	15,9	6,2
2	37,4	6,0
3	85,5	35

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Перниciозная анемия	85	63	74,1
Нормальная человеческая сыворотка	100	3	3,0

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 231	Пол.	63	3	
Anti-Parietal Cell	Отр.	22	97	
		85	100	185

Чувствительность:	74.1 %
Специфичность:	97.0 %
Общая согласованность:	86.5 %

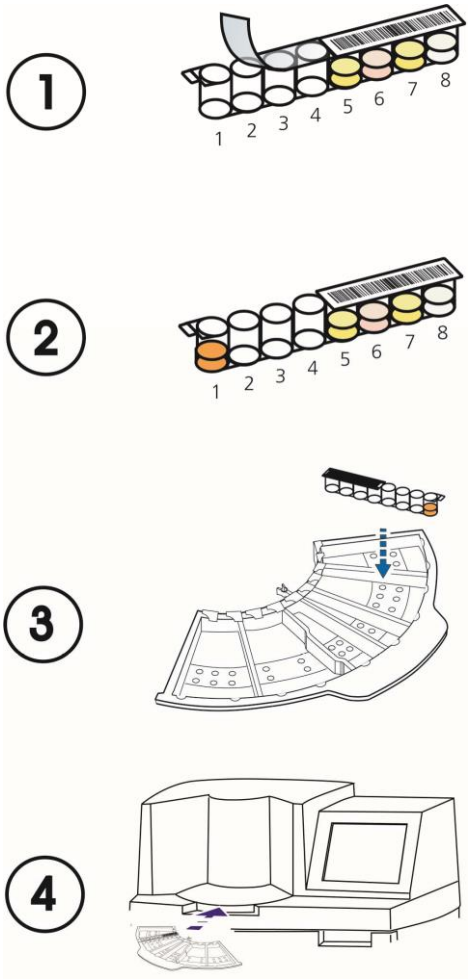
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Irvine, W. J..Davies, S. H., Delamore, I. W., Williams, A. W. Immunological relationship between pernicious anemia and thyroid disease. Br. Med. J. 1962, pp. 454-456.
2. Taylor, K. B., Roitt, I. M., Doniach, D., Couchman, K. G., Shapland, C. Autoimmune phenomena in pernicious
anemia: gastric antibodies. Br. Med. J. 1962, pp. 1347-1352.
3. Rabon, E. C. and Reuben M. A. The mechanism and structure of the gastric H+/K+-ATPase Annu. Rev. Physiol.
1990, No. 52, pp. 321-344
4. Pedersen, P. L. and Carfoli, E. Ion motive ATPases. I. Ubiquity properties and significance to cell function.
Trends Biochem Sei 1987,No. 12, pp. 146-149.
5. Van Driel, I. R., Callaghan, J. M. Proton and potassium transport by H+/K+-ATPase. Clin. Exp. Pharmacol.
Physiol. 1995.
6. Irvine,W. J., Cullen, D. R., Mawhinney, H. Natural history of autoimmune achlorhydric atrophic gastritis. A 1-15
year follows up study. Lancet 1974, No. 2, pp. 482-485.
7. Whittingham, S., Mackay, I. R. Pernicious anemia and gastric atrophy. In: Rose, N. R., Mackay, I. R. eds. The
Autoimmune Diseases. New York, Academic Press 1985, pp. 243-266.
8. Uibo, R., Krohn, K., Villako, K., Tammur, T., Tamm, A. The relationship of parietal cell, gastrin cell and thyroid
autoantibodies to the state of the gastric mucosa in a population sample. Scand. J. Gastroenterol. 1984, No. 19, pp. 1075-1080.
9. Varis, K., Ihamako, T., Harkonen, M., Samloff, I. M., Siurala, M. Gastric morphology, function and immunology in
first degree relatives of probands with pernicious anemia and controls. Scand. J. Gastroenterol. 1979, No. 14, pp. 129-139.
10. Lahner E, Annibale B: Pernicious anemia: new insights from a gastroenterological point of view. World J Gastroenterol. 2009, 15:5121-5128.
11. De Block CE, De L, I, Van Gaal LF: Autoimmune gastritis in type 1 diabetes: a clinically oriented review. J Clin. Endocrinol.Metab 2008, 93:363-371.
12. Jassel SV, Ardill JE, Fillmore D, Bamford KB, O'Connor FA, Buchanan KD: The rise in circulating gastrin with age is due to increases in gastric autoimmunity and Helicobacter pylori infection. QJM. 1999, 92:373-377.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

13. Carmel R: Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. Clin.Exp.Immunol 1992, 89:74-77.
14. Burman P, Karlsson FA, Lööf L, Szesci PB, Borch K: H+,K+-ATPase Antibodies in Autoimmune Gastritis: Observations on the Development of Pernicious Anemia. J Gastroenterol 1991,26:207-214.
15. Gleeson PA, Toh B-H: Molecular targets in pernicious anaemia. Immunology Today 1991, 12:233-238.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

240A_4

ORG 240A Anti-Tissue-Transglutaminase IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Tissue-Transglutaminase IgA предназначена для количественного определения антител класса IgA к тканевой трансглутаминазе методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

При соблюдении глютенсодержащей диеты антитела класса IgA к тканевой трансглутаминазе являются наиболее очевидным серологическим признаком целиакии. Определение уровня антител класса IgA к тканевой трансглутаминазе в сыворотке крови является первым выбором при подозрении на наличие целиакии. Пациентам с первичным или вторичным гуморальным дефицитом IgA рекомендуется провести по крайней мере один дополнительный тест на определение антител класса IgG, специфических для целиакии. Клиническая значимость положительного результата антител к тканевой трансглутаминазе должна быть подтверждена гистологическим исследованием слизистой оболочки тонкого кишечника.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
240A_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантная тканевая трансглутаминаза человека связывается с микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

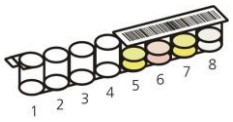
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код н штрихкоде: **tTG IgA** на печатной этикетке: **tTG IgA**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

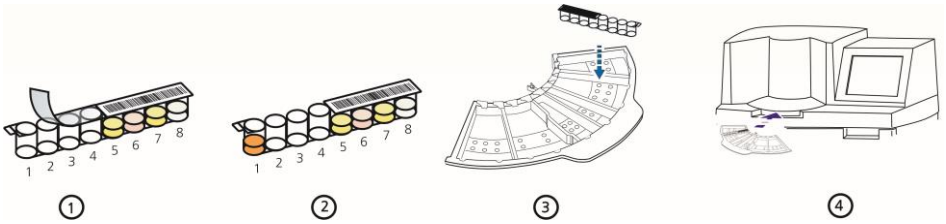
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	124,1	124,1	100
	1:200	64,7	62,1	104
	1:400	30,8	31,0	99

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:800	16,7	15,5	108
2	1:100	98,6	98,6	100
	1:200	50,6	49,3	103
	1:400	26,1	24,7	106
	1:800	13,9	12,3	113
3	1:100	74,9	74,9	100
	1:200	38,7	37,5	103
	1:400	18,6	18,7	99
	1:800	9,6	9,4	103

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	19,4	8,5
2	107,4	6,7
3	177,9	6,5

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	18,9	6,6
2	104,1	7,9
3	176,0	55

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Целиакия	35	35	100,0
Нормальная человеческая сыворотка	90	3	3,3

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 240A	Пол.	35	3	
Anti-Tissue-Transglutaminase IgA	Отр.	0	87	
		35	90	125

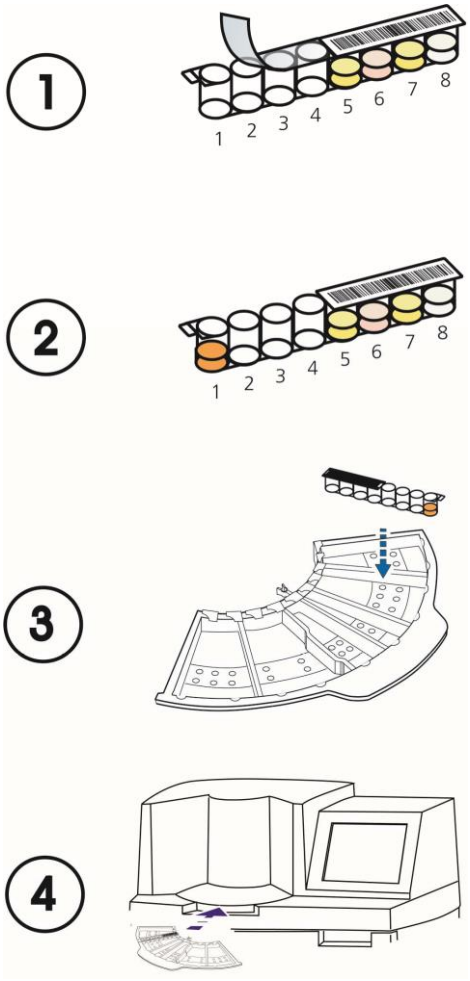
Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	96.7%
Общая согласованность:	97.6%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alessio M, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, Florena A, Schiaffino E, Marus W, Sulfaro S, Villalta D: Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease: A multicentre study. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2011.
2. Cummins AG, Roberts-Thomson IC: Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. J Gastroenterol. Hepatol. 2009, 24:1347-1351.
3. Giersiepen K, Leigemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR: Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:229-241.
4. Green PH, Cellier C: Celiac disease. N. Engl. J Med. 2007, 357:1731-1743.
5. Gupta R, Reddy DN, Makharia GK, Sood A, Ramakrishna BS, Yachha SK, Thapa BR, Banerjee R, An и rad ha S, Dutta U, Puri AS, Jain AK, Mulder CJ, Kumar A, Boindala S: Indian task force for celiac disease: current status. World J Gastroenterol. 2009, 15:6028-6033.
6. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Lelgeman M, Maki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP: European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:136-160.
7. Mahadov S, Green PH: Celiac disease: a challenge for all physicians. Gastroenterol. Hepatol.(N Y) 2011,7:554 -556.
8. Marietta EV, Rashtak S, Murray JA: Correlation analysis of celiac sprue tissue transglutaminase and deamidated gliadin IgG/lgA. World J Gastroenterol. 2009, 15:845-848.
9. Murray JA: Serodiagnosis of celiac disease. Clin. Lab. Med. 1997, 17:445-464.
10. Rubio-Tapia A, Murray JA: Celiac disease. Curr. Opin. Gastroenterol. 2010, 26:116-122.
11. Telega G, Bennet TR, Werlin S: Emerging new clinical patterns in the presentation of celiac disease. Arch. Pediatr. Adolesc. Med 2008, 162:164-168.
12. Tjon JM, van BJ, Koning F: Celiac disease: how complicated can it get? Immunogenetics 2010, 62:641-651.
13. van der Windt DA, Jellema P, Mulder CJ, Kneepkens CM, van der Horst HE: Diagnostic testing for celiac disease among patients with abdominal symptoms: a systematic review. JAMA 2010, 303:1738-1746.
14. Villalta D, Tonutti E, Prause C, Koletzko S, Uhlig HH, Vermeersch P, Bossuyt X, Stern M, Laass MW, Ellis JH, Ciclitira PJ, Richter T, Daehn rich C, Schlumberger W, Mothes T: IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. Clin. Chem. 2010, 56:464-468.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

240G_4

ORG 240G Anti-Tissue-Transglutaminase IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Tissue-Transglutaminase IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к тканевой трансглутаминазе методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

При соблюдении глютенсодержащей диеты антитела класса IgA к тканевой трансглутаминазе являются наиболее очевидным серологическим признаком целиакии. Определение уровня антител класса IgA к тканевой трансглутаминазе в сыворотке крови является первым выбором при подозрении на наличие целиакии. Пациентам с первичным или вторичным гуморальным дефицитом IgA рекомендуется провести по крайней мере один дополнительный тест на определение антител класса IgG, специфических для целиакии. Клиническая значимость положительного результата антител к тканевой трансглутаминазе должна быть подтверждена гистологическим исследованием слизистой оболочки тонкого кишечника.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
240G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантная тканевая трансглутаминаза человека связывается с микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

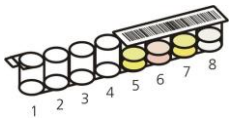
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **tTG IgG** на печатной этикетке: **tTG IgG**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

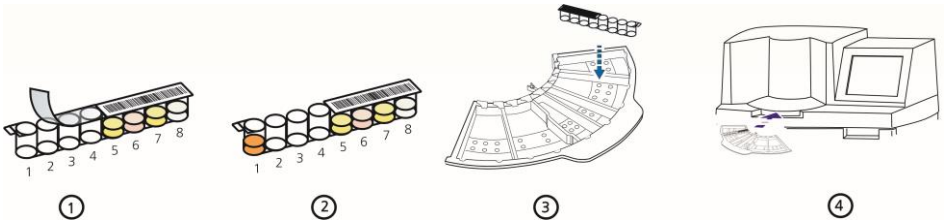
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	163,8	163,8	100
	1:200	79,6	81,9	97
	1:400	43,2	41,0	105

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:800	19,5	20,5	95
2	1:100	135,6	135,6	100
	1:200	69,2	67,8	102
	1:400	32,1	33,9	95
	1:800	17,5	17,0	103
3	1:100	185,6	185,6	100
	1:200	89,6	92,8	97
	1:400	48,6	46,4	105
	1:800	25,1	23,2	108

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	15,5	2,1
2	95,6	2,6
3	163,7	5,1

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	15,6	3,0
2	93,0	6,2
3	172,1	94

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Целиакия	35	23	65,7
Целиакия (дефицит IgA)	8	8	100,0
Нормальная человеческая сыворотка	90	0	0,0

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 240G	Пол.	31	0	
Anti-Tissue-Transglutaminase IgG	Отр.	12	90	
		43	90	133

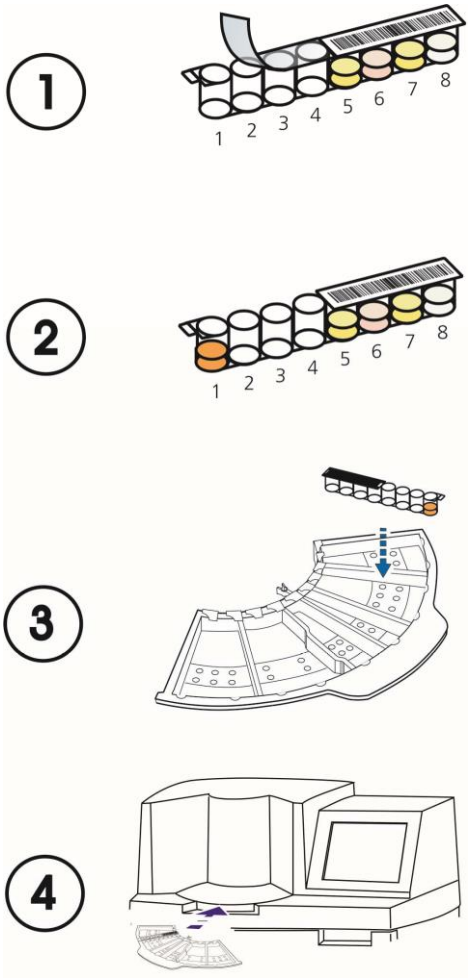
Чувствительность:	72.1%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	91.0%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alessio M, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, Florena A, Schiaffino E, Marus W, Sulfaro S, Villalta D: Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease: A multicentre study. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2011.
2. Cummins AG, Roberts-Thomson IC: Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. J Gastroenterol. Hepatol. 2009, 24:1347-1351.
3. Giersiepen K, Leigemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR: Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:229-241.
4. Green PH, Cellier C: Celiac disease. N. Engl. J Med. 2007, 357:1731-1743.
5. Gupta R, Reddy DN, Makharia GK, Sood A, Ramakrishna BS, Yachha SK, Thapa BR, Banerjee R, An и rad ha S, Dutta U, Puri AS, Jain AK, Mulder CJ, Kumar A, Boindala S: Indian task force for celiac disease: current status. World J Gastroenterol. 2009, 15:6028-6033.
6. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Lelgeman M, Maki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP: European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:136-160.
7. Mahadov S, Green PH: Celiac disease: a challenge for all physicians. Gastroenterol. Hepatol.(N Y) 2011,7:554 -556.
8. Marietta EV, Rashtak S, Murray JA: Correlation analysis of celiac sprue tissue transglutaminase and deamidated gliadin IgG/lgA. World J Gastroenterol. 2009, 15:845-848.
9. Murray JA: Serodiagnosis of celiac disease. Clin. Lab. Med. 1997, 17:445-464.
10. Rubio-Tapia A, Murray JA: Celiac disease. Curr. Opin. Gastroenterol. 2010, 26:116-122.
11. Telega G, Bennet TR, Werlin S: Emerging new clinical patterns in the presentation of celiac disease. Arch. Pediatr. Adolesc. Med 2008, 162:164-168.
12. Tjon JM, van BJ, Koning F: Celiac disease: how complicated can it get? Immunogenetics 2010, 62:641-651.
13. van der Windt DA, Jellema P, Mulder CJ, Kneepkens CM, van der Horst HE: Diagnostic testing for celiac disease among patients with abdominal symptoms: a systematic review. JAMA 2010, 303:1738-1746.
14. Villalta D, Tonutti E, Prause C, Koletzko S, Uhlig HH, Vermeersch P, Bossuyt X, Stern M, Laass MW, Ellis JH, Ciclitira PJ, Richter T, Daehn rich C, Schlumberger W, Mothes T: IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. Clin. Chem. 2010, 56:464-468.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

240S_2

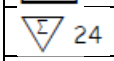
ORG 240S Anti-Tissue-Transglutaminase Screen

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Tissue-Transglutaminase Screen предназначена для количественного определения антител класса IgG и IgA к тканевой трансглутаминазе методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

При соблюдении глютенсодержащей диеты антитела класса IgA к тканевой трансглутаминазе являются наиболее очевидным серологическим признаком целиакии. Определение уровня антител класса IgA к тканевой трансглутаминазе в сыворотке крови является первым выбором при подозрении на наличие целиакии. Пациентам с первичным или вторичным гуморальным дефицитом IgA рекомендуется провести по крайней мере один дополнительный тест на определение антител класса IgG, специфических для целиакии. Клиническая значимость положительного результата антител к тканевой трансглутаминазе должна быть подтверждена гистологическим исследованием слизистой оболочки тонкого кишечника.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
240S_2	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантная тканевая трансглутаминаза человека связывается с микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

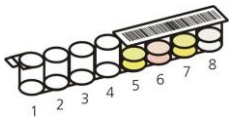
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP , антитела класса IgG и IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **tTG Screen** на печатной этикетке: **tTG Scr**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

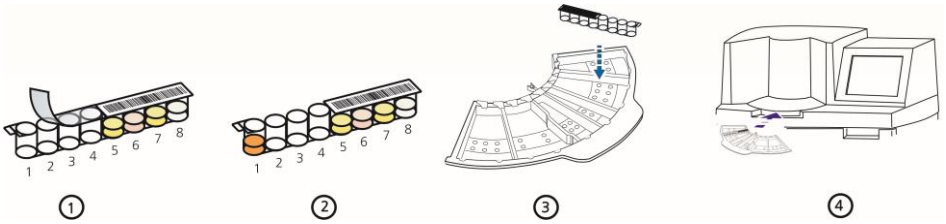
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 15 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 15 ед./мл
Повышенный результат:	> 15 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	189,6	189,6	100
	1:200	96,3	94,8	102
	1:400	49,0	47,4	103

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:800	24,0	23,7	101
2	1:100	125,6	125,6	100
	1:200	64,3	62,8	102
	1:400	32,0	31,4	102
	1:800	15,4	15,7	98
3	1:100	78,6	78,6	100
	1:200	39,8	39,3	101
	1:400	19,9	19,7	101
	1:800	9,6	9,8	98

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	23,6	3,0
2	76,4	8,0
3	185,3	5,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	21,4	9,0
2	73,8	8,4
3	178,3	58

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Целиакия	100	91	91,0
Нормальная человеческая сыворотка	150	3	2,0

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 240S	Пол.	91	3	
Anti-Tissue-Transglutaminase Screen	Отр.	9	147	
		100	150	250

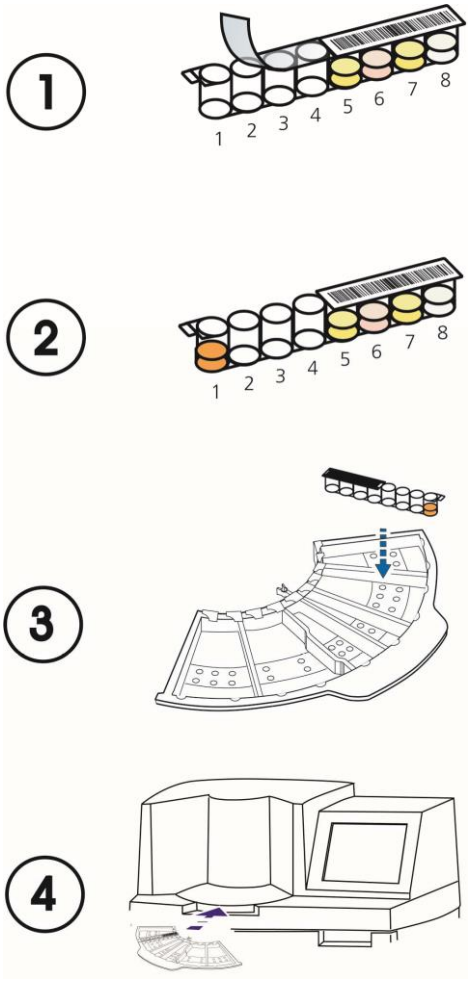
Чувствительность:	91.0%
Специфичность:	98.0%
Общая согласованность:	95.2%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alessio M, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, Florena A, Schiaffino E, Marus W, Sulfaro S, Villalta D: Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease: A multicentre study. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2011.
2. Cummins AG, Roberts-Thomson IC: Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. J Gastroenterol. Hepatol. 2009, 24:1347-1351.
3. Giersiepen K, Leigemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR: Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:229-241.
4. Green PH, Cellier C: Celiac disease. N. Engl. J Med. 2007, 357:1731-1743.
5. Gupta R, Reddy DN, Makharia GK, Sood A, Ramakrishna BS, Yachha SK, Thapa BR, Banerjee R, An и rad ha S, Dutta U, Puri AS, Jain AK, Mulder CJ, Kumar A, Boindala S: Indian task force for celiac disease: current status. World J Gastroenterol. 2009, 15:6028-6033.
6. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Lelgeman M, Maki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP: European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:136-160.
7. Mahadov S, Green PH: Celiac disease: a challenge for all physicians. Gastroenterol. Hepatol.(N Y) 2011,7:554 -556.
8. Marietta EV, Rashtak S, Murray JA: Correlation analysis of celiac sprue tissue transglutaminase and deamidated gliadin IgG/lgA. World J Gastroenterol. 2009, 15:845-848.
9. Murray JA: Serodiagnosis of celiac disease. Clin. Lab. Med. 1997, 17:445-464.
10. Rubio-Tapia A, Murray JA: Celiac disease. Curr. Opin. Gastroenterol. 2010, 26:116-122.
11. Telega G, Bennet TR, Werlin S: Emerging new clinical patterns in the presentation of celiac disease. Arch. Pediatr. Adolesc. Med 2008, 162:164-168.
12. Tjon JM, van BJ, Koning F: Celiac disease: how complicated can it get? Immunogenetics 2010, 62:641-651.
13. van der Windt DA, Jellema P, Mulder CJ, Kneepkens CM, van der Horst HE: Diagnostic testing for celiac disease among patients with abdominal symptoms: a systematic review. JAMA 2010, 303:1738-1746.
14. Villalta D, Tonutti E, Prause C, Koletzko S, Uhlig HH, Vermeersch P, Bossuyt X, Stern M, Laass MW, Ellis JH, Ciclitira PJ, Richter T, Daehn rich C, Schlumberger W, Mothes T: IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. Clin. Chem. 2010, 56:464-468.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

251A_4

ORG 251A Anti-DGP IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-DGP IgA предназначена для количественного определения антител класса IgA к деамидированным пептидам глиадина методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Определение антител к деамидированным пептидам глиадина может помочь в диагностике целиакии. Взаимодействие между пищевыми пептидами глиадина и кишечным ферментов тканевой транслутаминазе приводит к образованию новых антигенных эпитопов - деамидированных пептидов глиадина, генерируемых тканевой транслутаминазой, а антитела к деамидированным пептидам глиадина являются специфическими серологическими маркерами заболевания. Лабораторные исследования на наличие аутоантител, специфичных для данного заболевания, способствуют его диагностике, наряду с клиническими наблюдениями и гистологическим исследованием слизистой оболочки тонкого кишечника.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
251A_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Деамидированные белки глиадина связываются с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

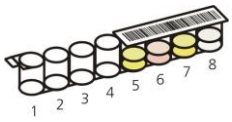
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **DGP IgA** на печатной этикетке: **DGP IgA**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 20 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

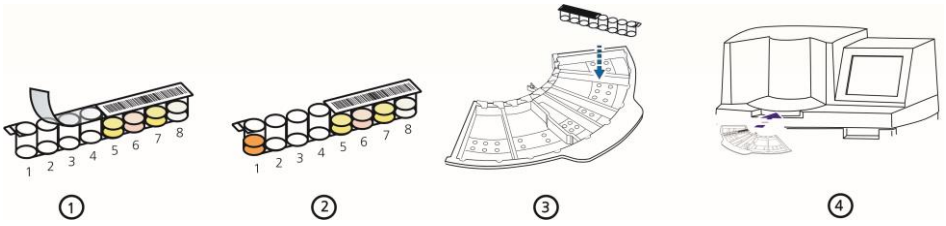
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 20 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА
Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ
С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений
Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения
В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ
Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность
Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	107,8	139,6	77

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	66,6	69,8	95
	1:400	34,7	34,9	99
	1:800	17,6	17,5	101
2	1:100	99,6	123,7	80
	1:200	61,6	61,9	100
	1:400	25,8	30,9	83
	1:800	15,3	15,5	99
3	1:100	80,4	100,0	80
	1:200	49,3	50.0	99
	1:400	25,1	25.0	100
	1:800	12,7	12,5	101

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	5,0	6,9
2	11,5	4,6
3	73,9	3,7

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	4,1	3,3
2	9,9	1,9
3	72,7	44

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Целиакия	40	29	72,5
Нормальная человеческая сыворотка	50	0	0,0

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 251A	Пол.	29	0	
Anti-DGP IgA	Отр.	11	50	
		40	50	90

Чувствительность:	72.5%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	87.8%

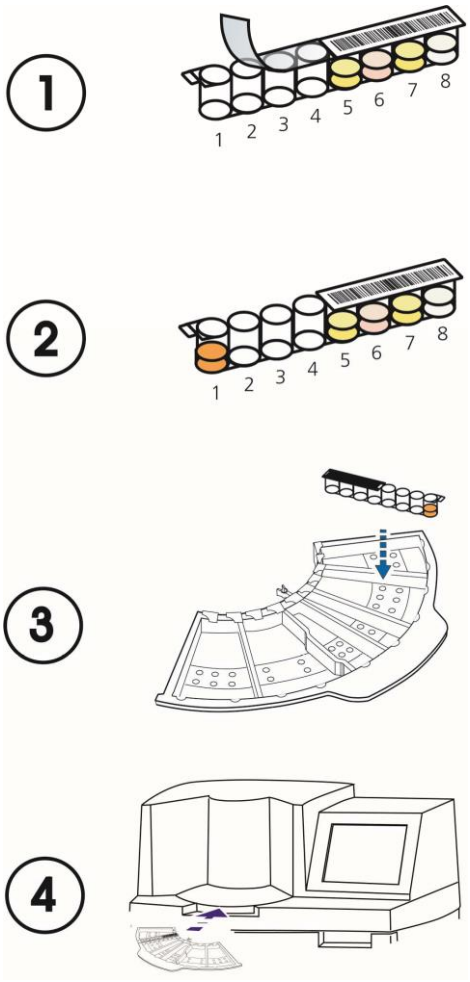
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alessio M, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, Florena A, Schiaffino E, Marus W, Sulfaro S, Villalta D: Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease: A multicentre study. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2011.
2. Cummins AG, Roberts-Thomson IC: Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. J Gastroenterol. Hepatol. 2009, 24:1347-1351.
3. Giersiepen K, Leigemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR: Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:229-241.
4. Green PH, Cellier C: Celiac disease. N. Engl. J Med. 2007, 357:1731-1743.
5. Gupta R, Reddy DN, Makharia GK, Sood A, Ramakrishna BS, Yachha SK, Thapa BR, Banerjee R, An и rad ha S, Dutta U, Puri AS, Jain AK, Mulder CJ, Kumar A, Boindala S: Indian task force for celiac disease: current status. World J Gastroenterol. 2009, 15:6028-6033.
6. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Lelgeman M, Maki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP: European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:136-160.
7. Mahadov S, Green PH: Celiac disease: a challenge for all physicians. Gastroenterol. Hepatol.(N Y) 2011,7:554 -556.
8. Marietta EV, Rashtak S, Murray JA: Correlation analysis of celiac sprue tissue transglutaminase and deamidated gliadin IgG/lgA. World J Gastroenterol. 2009, 15:845-848.
9. Murray JA: Serodiagnosis of celiac disease. Clin. Lab. Med. 1997, 17:445-464.
10. Rubio-Tapia A, Murray JA: Celiac disease. Curr. Opin. Gastroenterol. 2010, 26:116-122.
11. Telega G, Bennet TR, Werlin S: Emerging new clinical patterns in the presentation of celiac disease. Arch. Pediatr. Adolesc. Med 2008, 162:164-168.
12. Tjon JM, van BJ, Koning F: Celiac disease: how complicated can it get? Immunogenetics 2010, 62:641-651.
13. van der Windt DA, Jellema P, Mulder CJ, Kneepkens CM, van der Horst HE: Diagnostic testing for celiac disease among patients with abdominal symptoms: a systematic review. JAMA 2010, 303:1738-1746.
14. Villalta D, Tonutti E, Prause C, Koletzko S, Uhlig HH, Vermeersch P, Bossuyt X, Stern M, Laass MW, Ellis JH, Ciclitira PJ, Richter T, Daehn rich C, Schlumberger W, Mothes T: IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. Clin. Chem. 2010, 56:464-468.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

251G_4

ORG 251G Anti-DGP IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-DGP IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к деамидированным пептидам глиадина методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Определение антител к деамидированным пептидам глиадина может помочь в диагностике целиакии. Взаимодействие между пищевыми пептидами глиадина и кишечным ферментов тканевой транслутаминазе приводит к образованию новых антигенных эпитопов - деамидированных пептидов глиадина, генерируемых тканевой транслутаминазой, а антитела к деамидированным пептидам глиадина являются специфическими серологическими маркерами заболевания. Лабораторные исследования на наличие аутоантител, специфичных для данного заболевания, способствуют его диагностике, наряду с клиническими наблюдениями и гистологическим исследованием слизистой оболочки тонкого кишечника.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
251G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Деамидированные белки глиадина связываются с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

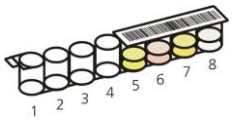
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **DGP IgG** на печатной этикетке: **DGP IgG**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 20 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

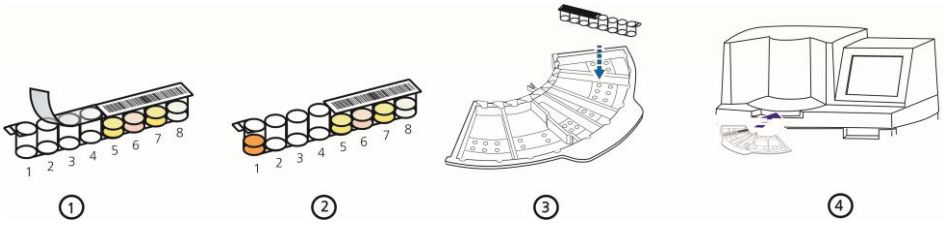
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 20 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	112,2	111,5	101
	1:200	59,7	55,8	101

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	25,4	27,9	91
	1:800	12,1	13,9	87
2	1:100	143,7	163,6	88
	1:200	83,1	81,8	102
	1:400	42,4	40,9	104
	1:800	18,3	20,4	90
3	1:100	90.3	94,4	96
	1:200	49,0	47,2	104
	1:400	23,3	23,6	99
	1:800	10,4	11,8	88

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	5,0	5,5
2	9,0	8,5
3	56,8	4,5

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	4,4	4,8
2	8,4	3,5
3	57,6	69

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Целиакия	40	37	92,5
Нормальная человеческая сыворотка	50	0	0,0

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 251G	Пол.	37	0	
Anti-DGP IgG	Отр.	3	50	
		40	50	90

Чувствительность:	92.5%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	96.7 %

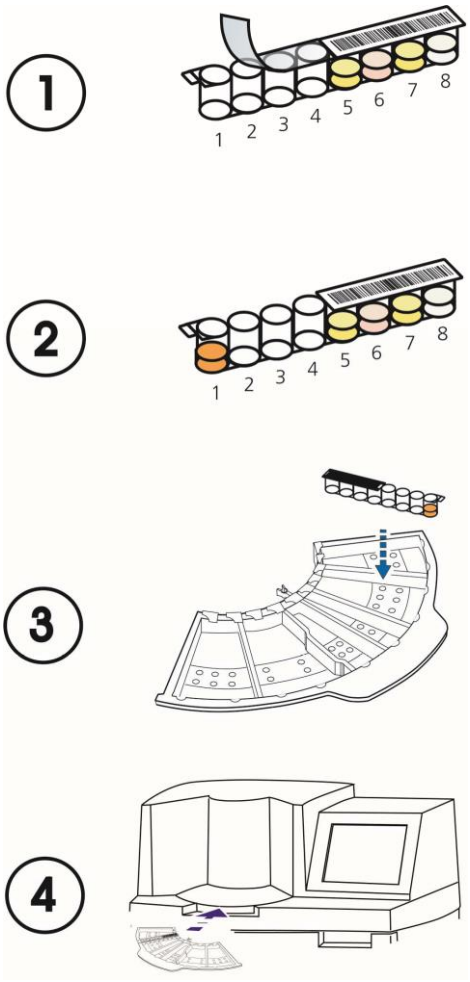
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alessio M, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, Florena A, Schiaffino E, Marus W, Sulfaro S, Villalta D: Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease: A multicentre study. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2011.
2. Cummins AG, Roberts-Thomson IC: Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. J Gastroenterol. Hepatol. 2009, 24:1347-1351.
3. Giersiepen K, Leigemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR: Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:229-241.
4. Green PH, Cellier C: Celiac disease. N. Engl. J Med. 2007, 357:1731-1743.
5. Gupta R, Reddy DN, Makharia GK, Sood A, Ramakrishna BS, Yachha SK, Thapa BR, Banerjee R, An и rad ha S, Dutta U, Puri AS, Jain AK, Mulder CJ, Kumar A, Boindala S: Indian task force for celiac disease: current status. World J Gastroenterol. 2009, 15:6028-6033.
6. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Lelgeman M, Maki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP: European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:136-160.
7. Mahadov S, Green PH: Celiac disease: a challenge for all physicians. Gastroenterol. Hepatol.(N Y) 2011,7:554 -556.
8. Marietta EV, Rashtak S, Murray JA: Correlation analysis of celiac sprue tissue transglutaminase and deamidated gliadin IgG/lgA. World J Gastroenterol. 2009, 15:845-848.
9. Murray JA: Serodiagnosis of celiac disease. Clin. Lab. Med. 1997, 17:445-464.
10. Rubio-Tapia A, Murray JA: Celiac disease. Curr. Opin. Gastroenterol. 2010, 26:116-122.
11. Telega G, Bennet TR, Werlin S: Emerging new clinical patterns in the presentation of celiac disease. Arch. Pediatr. Adolesc. Med 2008, 162:164-168.
12. Tjon JM, van BJ, Koning F: Celiac disease: how complicated can it get? Immunogenetics 2010, 62:641-651.
13. van der Windt DA, Jellema P, Mulder CJ, Kneepkens CM, van der Horst HE: Diagnostic testing for celiac disease among patients with abdominal symptoms: a systematic review. JAMA 2010, 303:1738-1746.
14. Villalta D, Tonutti E, Prause C, Koletzko S, Uhlig HH, Vermeersch P, Bossuyt X, Stern M, Laass MW, Ellis JH, Ciclitira PJ, Richter T, Daehn rich C, Schlumberger W, Mothes T: IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. Clin. Chem. 2010, 56:464-468.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

251S_4

ORG 251S Anti-DGP Screen

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-DGP Screen предназначена для количественного определения антител класса IgG и IgA к деамидированным пептидам глиадина методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Определение антител к деамидированным пептидам глиадина может помочь в диагностике целиакии. Взаимодействие между пищевыми пептидами глиадина и кишечным ферментов тканевой транслутаминазе приводит к образованию новых антигенных эпитопов - деамидированных пептидов глиадина, генерируемых тканевой транслутаминазой, а антитела к деамидированным пептидам глиадина являются специфическими серологическими маркерами заболевания. Лабораторные исследования на наличие аутоантител, специфичных для данного заболевания, способствуют его диагностике, наряду с клиническими наблюдениями и гистологическим исследованием слизистой оболочки тонкого кишечника.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
251S_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Деамидированные белки глиадина связываются с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

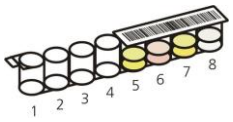
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP , антитела класса IgG и IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **DGP Screen** на печатной этикетке: **DGP-Scr**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 20 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

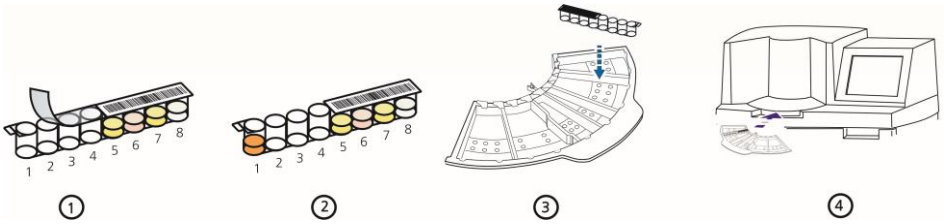
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 20 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	85,3	85,3	100
	1:200	41,7	42,7	98

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	20,6	21,3	97
	1:800	10,7	10,7	100
2	1:100	64,1	64,1	100
	1:200	29,8	32,1	93
	1:400	13,6	16,0	85
	1:800	6,6	8,0	83
3	1:100	31,2	31,2	100
	1:200	17,3	15,6	111
	1:400	8,3	7,8	107
	1:800	4,4	3,9	113

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл
4 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	11,7	13,8
2	27,7	11,0
3	82,1	4,5

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,1	14,0
2	27,4	11,5
3	78.1	89

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Целиакия	40	39	97,5
Нормальная человеческая сыворотка	50	0	0,0

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 251S	Пол.	39	0	
Anti-DGP Screen	Отр.	1	50	
		40	50	90

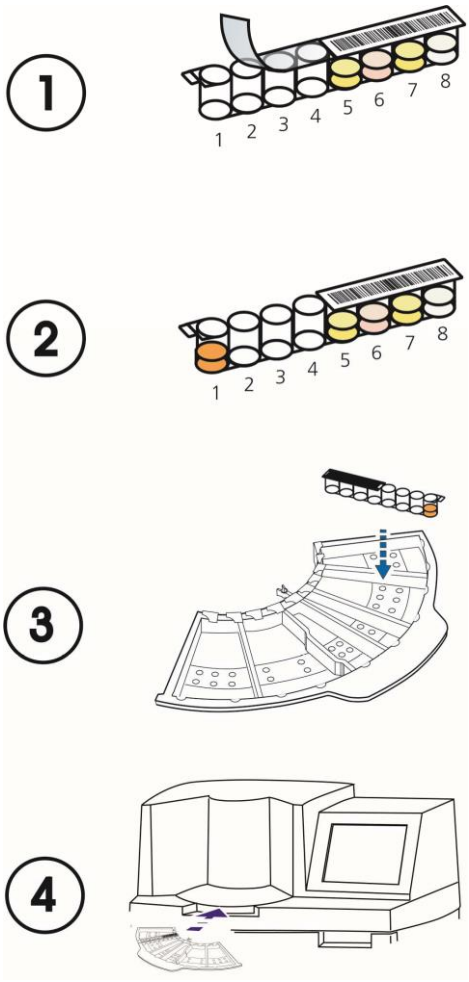
Чувствительность:	97.5%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	98.9 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alessio M, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, Florena A, Schiaffino E, Marus W, Sulfaro S, Villalta D: Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease: A multicentre study. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2011.
2. Cummins AG, Roberts-Thomson IC: Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. J Gastroenterol. Hepatol. 2009, 24:1347-1351.
3. Giersiepen K, Leigemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR: Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:229-241.
4. Green PH, Cellier C: Celiac disease. N. Engl. J Med. 2007, 357:1731-1743.
5. Gupta R, Reddy DN, Makharia GK, Sood A, Ramakrishna BS, Yachha SK, Thapa BR, Banerjee R, An и rad ha S, Dutta U, Puri AS, Jain AK, Mulder CJ, Kumar A, Boindala S: Indian task force for celiac disease: current status. World J Gastroenterol. 2009, 15:6028-6033.
6. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Lelgeman M, Maki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP: European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:136-160.
7. Mahadov S, Green PH: Celiac disease: a challenge for all physicians. Gastroenterol. Hepatol.(N Y) 2011,7:554 -556.
8. Marietta EV, Rashtak S, Murray JA: Correlation analysis of celiac sprue tissue transglutaminase and deamidated gliadin IgG/lgA. World J Gastroenterol. 2009, 15:845-848.
9. Murray JA: Serodiagnosis of celiac disease. Clin. Lab. Med. 1997, 17:445-464.
10. Rubio-Tapia A, Murray JA: Celiac disease. Curr. Opin. Gastroenterol. 2010, 26:116-122.
11. Telega G, Bennet TR, Werlin S: Emerging new clinical patterns in the presentation of celiac disease. Arch. Pediatr. Adolesc. Med 2008, 162:164-168.
12. Tjon JM, van BJ, Koning F: Celiac disease: how complicated can it get? Immunogenetics 2010, 62:641-651.
13. van der Windt DA, Jellema P, Mulder CJ, Kneepkens CM, van der Horst HE: Diagnostic testing for celiac disease among patients with abdominal symptoms: a systematic review. JAMA 2010, 303:1738-1746.
14. Villalta D, Tonutti E, Prause C, Koletzko S, Uhlig HH, Vermeersch P, Bossuyt X, Stern M, Laass MW, Ellis JH, Ciclitira PJ, Richter T, Daehn rich C, Schlumberger W, Mothes T: IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. Clin. Chem. 2010, 56:464-468.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

280_5

ORG 280 Calprotectin

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Calprotectin для количественного измерения кальпротектина методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах стула человека для оценки воспалительных заболеваний кишечника. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Повышенный уровень фекального кальпротектина может быть обнаружен у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК) и другими заболеваниями органов брюшной полости, например, инфекционным гастроэнтеритом, некротизирующим энтероколитом, муковисцидозом и колоректальным раком. Кальпротектин в образцах кала является чувствительным маркером ВЗК и особенно полезен для дифференциации синдрома раздраженного кишечника (СДК). Кроме того, измерение уровня кальпротектина может способствовать оценке активности заболевания.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
280_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию
EXTRACT	Среда для экстракции образцов кала

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Кальпротектин, содержащийся в образцах кала, должен быть выделен из образца кала с помощью экстракционной среды. Затем выделенный кальпротектин можно проанализировать с помощью тест-системы Alegria® Calprotectin.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антителом, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: Кальпротектин, присутствующий в контрольных материалах / положительных образцах, связывается с поверхностью реакционных лунок, образуя комплекс антитело-антиген. После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм. Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

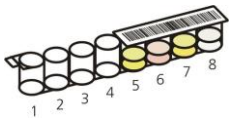
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антителом (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль, желтый цвет, содержит кальпротектин, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство,
консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Ферментный конъюгат; светло-красного цвета, содержит антитела к кальпротектину, меченые HRP, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консервант ProCiin 300 0.05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство,
консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин..

Антитела к кальпротектину наносятся на микролунки.

Код на штрихкоде: ***Calprotectin*** на печатной этикетке: ***Calpro***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

EXTRACT Среда для экстракции образцов кала, содержит TBS, стабилизирующий белок, экстракционный реагент, консервант азид натрия 0,09%. Готов к применению. **(F5126)**

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка, рокер-шейкер, настольная центрифуга, аналитические весы (опционально).
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл., микропробирки
- Дистиллированная или деионизированная вода

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАГЕНТЫ IVD

- F5126 EXTRACT Среда для экстракции образцов кала. Данный компонент набора можно приобрести отдельно.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

- ORG 282 Экстракционные пробирки для образцов кала; 100 шт.
- SSCO Устройства для сбора образцов кала

Данные дополнительные принадлежности приобретаются отдельно.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

СБОР ОБРАЗЦОВ, ПРИГОТОВЛЕНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

Сбор образца кала

Может использоваться устройства для сбора образцов кала (SSCO)

- Избегайте попадания туалетной воды, содержащей дезинфицирующие средства, в образец.
- Храните собранный образец кала не более 5 дней при температуре 2-8 °C. В качестве альтернативы допустимо хранение при температуре -20 °C.

Подготовка образца кала к экстракции

Образец кала и EXTRACT должны быть доведены до комнатной температуры.

Для анализа на кальпротектин Alegria® образец кала должен быть разведен в пропорции 1:50 в прилагаемой EXTRACT (среды для экстракции образцов кала). Неоднородные образцы должны быть гомогенизированы перед отбором проб, например, с помощью инокуляционной петли. При анализе жидких образцов кала советуем взвесить образец.

Экстракция кальпротектина с использованием экстракционных пробирок для образцов кала (ORG 282)

Подготовьте экстракционные пробирки для образцов кала (ORG 282)

- Внесите **750 мкл** EXTRACT в прозрачную пробирку для получения разведения в пропорции 1:50.

  Используйте экстракционные пробирки для образцов кала согласно с руководством по эксплуатации к продукту ORG 282.
- Экстракция

Используйте вихревой миксер в течение 30 секунд при 1800 об/мин для удаления образцов кала из

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

углублений шпателя.
После этого гомогенизируйте образец в течение 15 минут на самой высокой скорости, используя рокер-шейкер.
Откройте пробирку на синей конусной вставке и перенесите гомогенат в микропробирку.
Центрифугируйте в течение 2 минут при 3000xg. Перенесите прозрачную жидкость в другую микропробирку и немедленно проведите анализ на кальпротектин.

Экстракция кальпротекин и использованием прочих пробирок

- Взвесьте пустую пробирку.

Соберите образец кала и перенесите его в пробирку. Взвесьте и определите массу нетто образца.

- Внесите **750 мкл** EXTRACT в пробирку: 49-кратная масса нетто образца, необходимая для получения разбавления 1:50

Образец кала	+	EXTRACT	Образец кала	+	EXTRACT
15 мг	+	0,75 мл	60 мг	+	2,9 мл
20 мг	+	1,0 мл	70 мг	+	3,4 мл
30 мг	+	1,5 мл	80 мг	+	3,9 мл
40 мг	+	2,0 мл	90 мг	+	4,4 мл
50 мг	+	2,5 мл	100 мг	+	4,9 мл

Закройте пробирку. Используйте вихревой миксер в течение 30 секунд при 1800 об/мин. После этого гомогенизируйте образец в течение 15 минут на самой высокой скорости, используя рокер-шейкер.
Откройте пробирку. Перенесите гомогенат в микропробирку. Центрифугируйте в течение 2 минут при 3000xg.
Перенесите прозрачную жидкость в другую микропробирку и немедленно проведите анализ на кальпротектин.

Экстрагированный образец кала можно хранить при температуре 2-8 °C до 5 дней или при температуре -20 °C до 4 месяцев. Экстрагированный образец кала не стабилент при хранении при комнатной температуре.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

EXTRACT

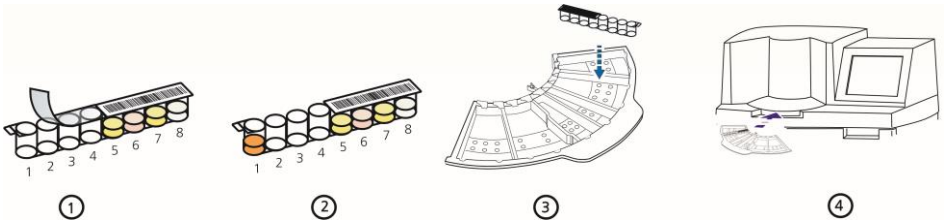
Готов к применению.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл экстрагированного образца кала на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.
Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.



КАЛИБРОВКА
Аналитическая система калибруется по эталонному препарату кальпротектина, очищенному от нейтрофилов человека.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ
С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений
Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0- 1000 мкг/г.

Ожидаемые значения
В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 50 мкг/г

Интерпретация результатов

Нормальный диапазон	< 50 мкг/г
Незначительно повышенные значения	50- 200 мкг/г
Значительно повышенные значения	> 200 мкг/г

Уровень кальпротектина в нормальном диапазоне: воспаление желудочно-кишечного тракта почти исключено; дальнейшие инвазивные диагностические мероприятия обычно не требуются.
Уровень кальпротектина слегка повышен: низкий уровень воспалительной активности в желудочно-кишечном тракте (например, ВЗК в стадии ремиссии); рекомендуется проведение повторного исследования и дальнейшие диагностические мероприятия.
Уровень кальпротектина значительно повышен: активное органическое заболевание желудочно-кишечного тракта; необходимо срочное проведение дальнейших интенсивных диагностических исследований и лечение у специализированного гастроэнтеролога.
Линейность
Для определения динамического диапазона теста, образцы, содержащие кальпротектин, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		(мкг/г)	(мкг/г)	(%)
1	1:100	746,8	746,8	100
	1:200	366,7	373,4	98
	1:400	186,7	186,7	100
	1:800	89,5	93,4	96
2	1:100	625,5	626,5	100
	1:200	325,0	313,3	104
	1:400	151,1	156,6	97
	1:800	65,2	78,3	83
3	1:100	112,9	112,9	100
	1:200	59,5	56,5	105
	1:400	26,5	28,2	94
	1:800	14,6	14,1	103

Чувствительность
Минимальная обнаруживаемая концентрация: 5,2 мкг/г

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 20 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 3 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, мкг/г	КВ, %
1	49,5	5,5
2	218,2	6,1
3	847,9	9,9

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, мкг/г	КВ, %
1	47,8	8,7
2	107,1	6,5
3	335,8	7 1

Субстанции, создающие помехи для анализа
Проведено исследование следующих веществ с 15 мг образца кала. Интерференции со следующими веществами не обнаружено: Ванкомицина гидрохлорид 0,201 мг, Ципрофлоксацин 0,15 мг, Превазид 0,006 мг, Азатиоприн 0,021 мг, Преднизон 0,003 мг, Пентаза 0,399 мг, Витамин А 2,4 МЕ, Витамин С 0,015 мг, Витамин Е 0,03 мг, Витамин D3 0,33 МЕ, Гемоглобин 1,749 мг. Следующие микроорганизмы были протестированы в концентрации 1,1 х 107 КОЕ на 15 мг образца кала и были признаны не демонстрирующими интерференции: *E. coli, Klebsiella pneumoniae, Salmonella enterica, Shigella flexneri, Yersinia enterocolitica*.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК)	186	182	97.8
Заболевания органов брюшной полости	144	10	6,9
Здоровый донор	18	0	0,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 280	Пол.	182	10	
	Отр.	4	152	
		186	162	348

Чувствительность:	97.8%
Специфичность:	93.8%
Общая согласованность:	96.0 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны в образцах кала следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) вызывают энтеропатию у 20-65 % пациентов, принимающих данные препараты. Прием НПВП может привести к повышению уровня фекального кальпротектина. В подобных случаях следует рассмотреть возможность повторного определения фекального кальпротектина после прекращения приема НПВС.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Burri; Beglinger: “Faecal calprotectin - a useful tool in the management of inflammatory bowel disease”. Swiss Med Wkly. 2012; 142: w13557
2. Van Rheenen et al.: “Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis”. BMJ. 2010; 341: c3369
3. Johne; Fagerhol et al.: “Functional and clinical aspects of the myelomonocyte protein calprotectin”. J Clin Pathol: Mol Pathol. 1997; 50: 113-123
4. Berni et al.: “Faecal calprotectin is a useful diagnostic tool in pediatric gastroenterology”. Ital J Pediatr. 2005; 31: 89-94
5. Canani et al.: "Diagnostic value of faecal calprotectin in paediatric gastroenterology clinical practice“. Digestive and Liver Disease. 2004; 36: 467-470
6. Costa et al.: “Role of faecal calprotectin as non-invasive marker of intestinal inflammation”. Digestive and Liver Disease. 2003; 35: 642-647
7. Chapaiboon et al.: "Calprotectin S100A9 calcium binding loops I and II are essential for kératinocyte resistance to bacterial invasion“. The Journal of biological Chemistry. 2009; Vol 284; No 11: 7078-7090
8. Costa et al.: “Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease”. Gut. 2005; 54: 364-368
9. Fagerberg et al.: "Fecal calprotectin levels in healthy children studied with an improved assay“.

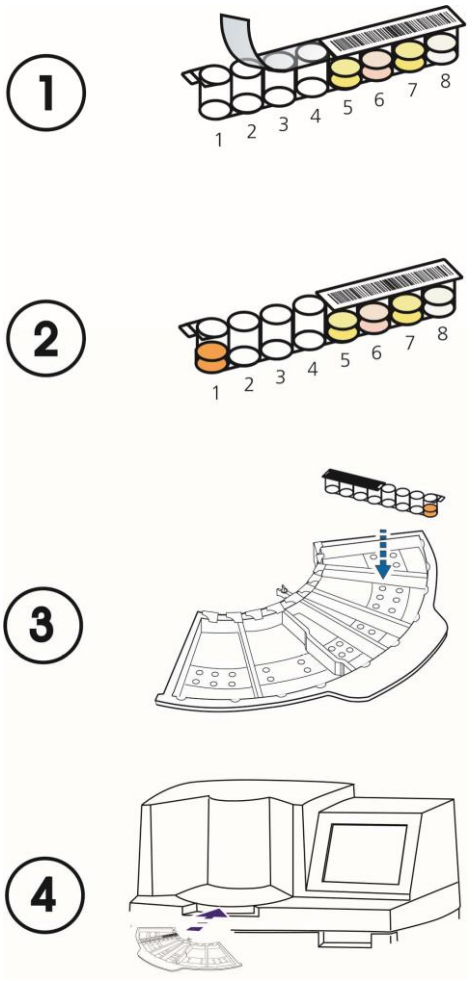
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 2003; 37: 468-472
10. Montalto et al.: “Fecal calprotectin in first-degree relatives of patients with ulcerative colitis“. Am J Gastroenterol. 2006; 101: 1-5
11. Roseth et al.: "Normalization of faecal calprotectin: a predictor of mucosal healing in patients with inflammatory bowel disease“. Sea nd J Gastroenterol. 2004; 39: 1017-1020
12. Whitehead et al.: "Between-assay variability of faecal calprotectin enzyme-linked immunosorbent assay kits”. Annals of Clinical Biochemistry. 2013; 50: 53-61
13. NICE Diagnostics guidance 11, Oct. 2013, Faecal calprotectin diagnostic tests for inflammatory diseases of the bowel.
14. Layer et al.: "S3-Leitlinie Reizdarmsyndrom: Definition, Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie. Gemeinsame Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) und der Deutschen Gesellschaft für Neurogastroenterologie und Motilität (DGNM)". Z. Gastroenterol. 2011 ; 49:237 -293
15. Carroccio et al./'Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children." Clin. Chem. 2003; 49:6: 861-867.
16. Montalto et al.: “Role of fecal calprotectin in gastrointestinal disorder“. Eur Rev Med Pharmacol Sei. 2013; 17: 1569-1582
17. Tibble et al.: “High prevalence of NSAID enteropathy as shown by simple faecal test”. Gut. 1999; 45: 362-366

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 280_IFU_EN_QM131061_2016-08-01_4*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

284_2

ORG 284 Lactoferrin

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Lactoferrin для количественного измерения лактоферрина методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах стула человека для оценки воспалительных заболеваний кишечника. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Повышенный уровень фекального лактоферрина может быть обнаружен у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК) и другими заболеваниями органов брюшной полости, например, инфекционным гастроэнтеритом, некротизирующим энтероколитом, муковисцидозом и колоректальным раком. Лактоферрин в кале является чувствительным маркером ВЗК.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
284_2	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию
EXTRACT	Среда для экстракции образцов кала

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Лактоферрин, содержащийся в образцах кала, должен быть выделен из образца кала с помощью экстракционной среды. Затем выделенный лактоферрин можно проанализировать с помощью тест-системы Alegria® Lactoferrin .

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антителом, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: Лактоферрин, присутствующий в контрольных материалах / положительных образцах, связывается с поверхностью реакционных лунок, образуя комплекс антитело-антиген. После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм. Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Контрольные материалы содержат материалы человеческого происхождения. Поскольку ни один анализ не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов в материале человеческого происхождения, мы рекомендуем обращаться с тест-полосками Alegria® как с потенциально инфицированным материалом.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.
- Контроль, буфер для разведения образцов, среда для экстракции кала и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.
- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. Снимите контактные линзы, если они есть, и это легко сделать. При необходимости обратитесь к врачу. При вдыхании: выйдите на свежий воздух. При проглатывании:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Прополощите рот водой и выплюньте. Затем немедленно выпейте 1-2 стакана воды. Во время спонтанной рвоты держите голову пострадавшего низко, а тело в прон-позиции, чтобы избежать попадания рвотных масс в трахеи.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса.

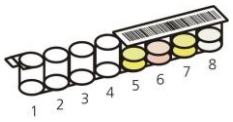
Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.

- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антителом (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль, желтый цвет, содержит лактоферрин, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство,
консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Ферментный конъюгат; светло-красного цвета, содержит антитела к лактоферрину, меченые HRP, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консервант ProCiin 300 0.05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство,
консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин..

Антитела к лактоферрину наносятся на микролунки.

Код на штрихкоде: ***Lactoferrin Stool*** на печатной этикетке: ***Lacto***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

EXTRACT Среда для экстракции образцов кала, содержит TBS, стабилизирующий белок, экстракционный реагент, консервант азид натрия 0,09%. Готов к применению. **(F5126)**

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

герметичном пакете.

- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка, рокер-шейкер, настольная центрифуга, аналитические весы (опционально).
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл., микропробирки
- Дистиллированная или деионизированная вода

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАГЕНТЫ IVD

- F5126 EXTRACT Среда для экстракции образцов кала. Данный компонент набора можно приобрести отдельно.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

- ORG 282 Экстракционные пробирки для образцов кала; 100 шт.
- SSCO Устройства для сбора образцов кала

Данные дополнительные принадлежности приобретаются отдельно.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

СБОР ОБРАЗЦОВ, ПРИГОТОВЛЕНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

Сбор образца кала

Может использоваться устройства для сбора образцов кала (SSCO)

- Избегайте попадания туалетной воды, содержащей дезинфицирующие средства, в образец.
- Храните собранный образец кала не более 5 дней при температуре 2-8 °C. В качестве альтернативы допустимо хранение при температуре -20 °C.

Подготовка образца кала к экстракции

Образец кала и EXTRACT должны быть доведены до комнатной температуры.

Для анализа на кальпротектин Alegria® образец кала должен быть разведен в пропорции 1:50 в прилагаемой EXTRACT (среды для экстракции образцов кала). Неоднородные образцы должны быть гомогенизированы перед отбором проб, например, с помощью инокуляционной петли. При анализе жидких образцов кала советуем взвесить образец.

Экстракция кальпротектина с использованием экстракционных пробирок для образцов кала (ORG 282)

Подготовьте экстракционные пробирки для образцов кала (ORG 282)

- Внесите **750 мкл** EXTRACT в прозрачную пробирку для получения разведения в пропорции 1:50.

  Используйте экстракционные пробирки для образцов кала согласно с руководством по эксплуатации к продукту ORG 282.
- Экстракция

Используйте вихревой миксер в течение 30 секунд при 1800 об/мин для удаления образцов кала из углублений шпателя.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

После этого гомогенизируйте образец в течение 15 минут на самой высокой скорости, используя рокер-шейкер.
Откройте пробирку на синей конусной вставке и перенесите гомогенат в микропробирку.
Центрифугируйте в течение 2 минут при 3000xg. Перенесите прозрачную жидкость в другую микропробирку и немедленно проведите анализ на кальпротектин.

Экстракция кальпротекин и использованием прочих пробирок

- Взвесьте пустую пробирку.

Соберите образец кала и перенесите его в пробирку. Взвесьте и определите массу нетто образца.

- Внесите EXTRACT в пробирку: 49-кратная масса нетто образца, необходимая для получения разбавления 1:50

Образец кала	+	EXTRACT	Образец кала	+	EXTRACT
15 мг	+	0,75 мл	60 мг	+	2,9 мл
20 мг	+	1,0 мл	70 мг	+	3,4 мл
30 мг	+	1,5 мл	80 мг	+	3,9 мл
40 мг	+	2,0 мл	90 мг	+	4,4 мл
50 мг	+	2,5 мл	100 мг	+	4,9 мл

Закройте пробирку. Используйте вихревой миксер в течение 30 секунд при 1800 об/мин. После этого гомогенизируйте образец в течение 15 минут на самой высокой скорости, используя рокер-шейкер.
Откройте пробирку. Перенесите гомогенат в микропробирку. Центрифугируйте в течение 2 минут при 3000xg.
Перенесите прозрачную жидкость в другую микропробирку и немедленно проведите анализ на кальпротектин.

Экстрагированный образец кала можно хранить при температуре 2-8 °C до 5 дней или при температуре -20 °C до 4 месяцев. Экстрагированный образец кала не стабилент при хранении при комнатной температуре.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

EXTRACT

Готов к применению.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.
Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

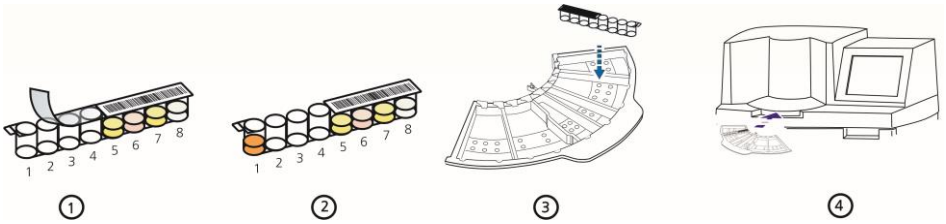
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 100 мкл экстрагированного образца кала на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по эталонному препарату лактоферрина из грудного молока.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0- 1000 мкг/г.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 7,2 мкг/г

Интерпретация результатов

Нормальный диапазон	< 7,2 мкг/г
Повышенные значения	> 7,2 мкг/г

Уровень лактоферрина в нормальном диапазоне: воспаление желудочно-кишечного тракта почти исключено; дальнейшие инвазивные диагностические мероприятия обычно не требуются.
Уровень лактоферрина повышен: органическое заболевание желудочно-кишечного тракта; необходимо срочное проведение дальнейших интенсивных диагностических исследований и лечение у специализированного гастроэнтеролога.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, образцы, содержащие лактоферрин , были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		(мкг/г)	(мкг/г)	(%)
1	1:20	122,7	122,7	100
	1:40	60.7	61,4	99
	1:80	30,0	30,7	98
	1:160	14,5	15,3	94
2	1:20	32,6	32,6	100
	1:40	14,6	16,3	90
	1:80	7,4	8,2	90
	1:160	4,0	4,1	97
3	1:20	63,4	63,4	100
	1:40	31,6	31,7	100
	1:80	15,7	15,9	97
	1:160	7,4	7,9	93

Чувствительность
Минимальная обнаруживаемая концентрация: 2,5 мкг/г

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 20 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 3 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, мкг/г	КВ, %
1	15,0	5,8
2	23,9	9,1
3	77,3	7,7

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, мкг/г	КВ, %
1	26,1	5,7
2	31,8	5,8
3	81,7	10,8

Субстанции, создающие помехи для анализа
Проведено исследование следующих веществ с 15 мг образца кала. Интерференции со следующими веществами не обнаружено: Ванкомицина гидрохлорид 0,201 мг, Ципрофлоксацин 0,15 мг, Превазид 0,006 мг, Азатиоприн 0,021 мг, Преднизон 0,003 мг, Пентаза 0,399 мг, Витамин А 2,4 МЕ, Витамин С 0,015 мг, Витамин Е 0,03 мг, Витамин D3 0,33 МЕ, Гемоглобин 1,749 мг. Следующие микроорганизмы были протестированы в концентрации 1,1 х 107 КОЕ на 15 мг образца кала и были признаны не демонстрирующими интерференции: *E. coli, Klebsiella pneumoniae, Salmonella enterica, Shigella flexneri, Yersinia enterocolitica*.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК)	235	209	88,9
Заболевания органов брюшной полости	132	4	3,0
Здоровый донор	9	0	0,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 284	Пол.	209	4	
	Отр.	26	137	
		235	141	376

Чувствительность:	88.9%
Специфичность:	97.2 %
Общая согласованность:	92.0%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны в образцах кала следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) вызывают энтеропатию у 20-65 % пациентов, принимающих данные препараты. Прием НПВП может привести к повышению уровня фекального лактоферрина. В подобных случаях следует рассмотреть возможность повторного определения фекального лактоферрина после прекращения приема НПВС.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

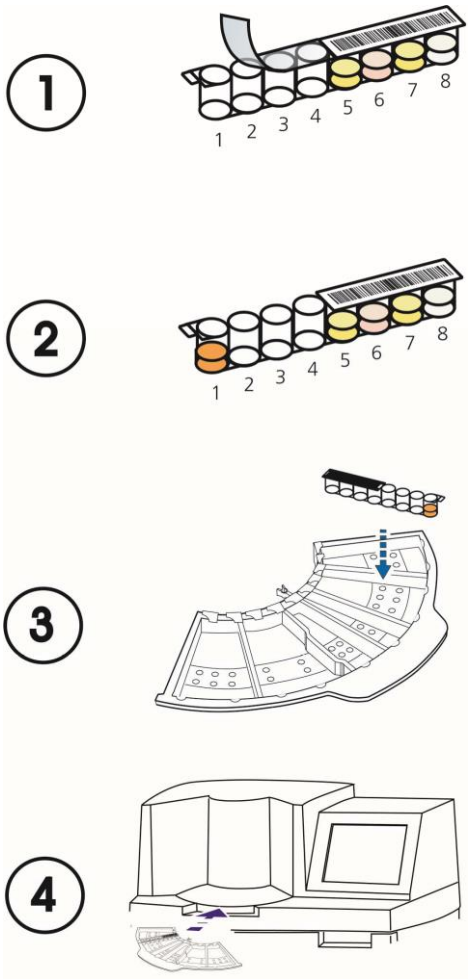
1. Lehmann,F.S., Burri,E., and Beglinger,C., The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease. Therap.Adv.Gastroenterol. 2015. 8: 23-36.
2. Zhou,X.L,, Xu,W,, Tang,X.X., Luo.L.S., Tu,J.F,, Zhang,C.J., Xu,X., Wu,Q.D,, and Pan,W.S,, Fecal lactoferrin in discriminating inflammatory bowel disease from Irritable bowel syndrome: a diagnostic meta-analysis. BMC Gastroenterol. 2014. 14: 121.
3. Abraham,B.P. and Kane,S., Fecal markers: calprotectin and lactoferrin. Gastroenterol.Clin North Am 2012. 41: 483-495.
4. Caccaro,R., D'Inca,R., Pathak,S., and Sturniolo,G.C., Clinical utility of calprotectin and lactoferrin in patients with inflammatory bowel disease: is there something new from the literature? Expert Rev Clin Immunol 2012. 8: 579-585.
5. Judd,T.A., Day,A.S., Lemberg,D.A., Turner,D., and Leach,S.T., Update of fecal markers of inflammation in inflammatory bowel disease. J Gastroenterol.Hepatol. 2011.26: 1493-1499.
6. Lewis,J.D., The utility of biomarkers in the diagnosis and therapy of inflammatory bowel disease. Gastroenterology 2011. 140: 1817-1826.
7. Schoepfer,A.M., Trummler,M., Seeholzer,P., Seibold-Schmid,B., and Seibold,F., Discriminating IBD from IBS: comparison of the test performance of fecal markers, blood leukocytes, CRP, and IBD antibodies. Inflamm. Bowel.Dis. 2008. 14:32-39.
8. Sutherland,A.D., Gearry,R.B., and Frizelle,F.A., Review of fecal biomarkers in inflammatory bowel disease. Dis Colon Rectum 2008. 51: 1283-1291.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9. Walker,T.R.,Land,M.L., Kartashov,A., Saslowsky,T.M., Lyerly,D.M., Boone,J.H., and Rufo,P.A., Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker of disease activity in children and young adults with inflammatory bowel disease. J Pediatr Gastroenterol.Nutr 2007. 44: 414-422.
10. Tibble,J.A., Sigthorsson,G., Foster,R., Scott,D., Fagerhol,M.K., Roseth,A., and Bjarnason,I., High prevalence of NSAID enteropathy as shown by a simple faecal test. Gut 1999. 45: 362-366.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 284_IFU_EN_QM150278_2015-03-24_1*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

286_2

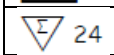
ORG 286 Alpha-1-Antitrypsin

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Alpha-1-Antitrypsin для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения альфа-1-антитрипсина методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах кала человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Альфа-1-антитрипсин может быть обнаружен в стуле при потере белка через слизистую оболочку кишечника или повышенной проницаемости слизистой оболочки кишечника. Тест используется как вспомогательное средство при дифференциальной диагностике воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) и может дополнить оценку степени активности хронического ВЗК. Интерпретация результатов анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
286_2	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию
EXTRACT	Среда для экстракции образцов кала

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Альфа-1-антитрипсин, содержащийся в образцах кала, должен быть выделен из образца кала с помощью экстракционной среды. Затем выделенный Альфа-1-антитрипсин можно проанализировать с помощью тест-системы Alegria® Alpha-1-Antitrypsin.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антителом, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: Альфа-1-антитрипсин, присутствующий в контрольных материалах / положительных образцах, связывается с поверхностью реакционных лунок, образуя комплекс антитело-антиген. После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм. Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Контрольные материалы содержат материалы человеческого происхождения. Поскольку ни один анализ не может гарантировать отсутствие инфекционных агентов в материале человеческого происхождения, мы рекомендуем обращаться с тест-полосками Alegria® как с потенциально инфицированным материалом.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.
- Контроль, буфер для разведения образцов, среда для экстракции кала и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.
- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. Снимите контактные линзы, если они есть, и это легко сделать. При

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

необходимости обратитесь к врачу. При вдыхании: выйдите на свежий воздух. При проглатывании: Прополощите рот водой и выплюньте. Затем немедленно выпейте 1-2 стакана воды. Во время спонтанной рвоты держите голову пострадавшего низко, а тело в прон-позиции, чтобы избежать попадания рвотных масс в трахеи.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса.

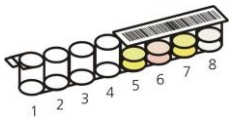
Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.

- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антителом (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит альфа-1-антитрипсин, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство,
консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Ферментный конъюгат; светло-красного цвета, содержит антитела к альфа-1-антитрипсину,
меченые HRP, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консервант ProCiin 300 0.05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит TBS, стабилизирующий белок, очищающее средство,
консервант азид натрия 0,09%

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3’ 5,5'-тетраметилбензидин..

Антитела к альфа-1-антитрипсину связываются с микролунками.

Код на штрихкоде: ***alphal Antitr Stool alphalAT***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

EXTRACT Среда для экстракции образцов кала, содержит TBS, стабилизирующий белок, экстракционный реагент, консервант азид натрия 0,09%. Готов к применению. **(F5126)**

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

хранения и использования.

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка, рокер-шейкер, настольная центрифуга, аналитические весы (опционально).
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл., микропробирки
- Дистиллированная или деионизированная вода

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАГЕНТЫ IVD

- F5126 EXTRACT Среда для экстракции образцов кала. Данный компонент набора можно приобрести отдельно.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

- ORG 282 Экстракционные пробирки для образцов кала; 100 шт.
- SSCO Устройства для сбора образцов кала

Данные дополнительные принадлежности приобретаются отдельно.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

СБОР ОБРАЗЦОВ, ПРИГОТОВЛЕНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

Сбор образца кала

Может использоваться устройства для сбора образцов кала (SSCO)

- Избегайте попадания туалетной воды, содержащей дезинфицирующие средства, в образец.
- Храните собранный образец кала не более 5 дней при температуре 2-8 °C. В качестве альтернативы допустимо хранение при температуре -20 °C.

Подготовка образца кала к экстракции

Образец кала и EXTRACT должны быть доведены до комнатной температуры.

Для анализа на альфа-1-антитрипсин Alegria® образец кала должен быть разведен в пропорции 1:50 в прилагаемой EXTRACT (среды для экстракции образцов кала). Неоднородные образцы должны быть гомогенизированы перед отбором проб, например, с помощью инокуляционной петли. При анализе жидких образцов кала советуем взвесить образец.

Экстракция альфа-1-антитрипсина с использованием экстракционных пробирок для образцов кала (ORG 282)

Подготовьте экстракционные пробирки для образцов кала (ORG 282)

- Внесите **750 мкл** EXTRACT в прозрачную пробирку для получения разведения в пропорции 1:50.

  Используйте экстракционные пробирки для образцов кала согласно с руководством по эксплуатации к продукту ORG 282.
- Экстракция

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Используйте вихревой миксер в течение 30 секунд при 1800 об/мин для удаления образцов кала из углублений шпателя.
После этого гомогенизируйте образец в течение 15 минут на самой высокой скорости, используя рокер-шейкер.
Откройте пробирку на синей конусной вставке и перенесите гомогенат в микропробирку.
Центрифугируйте в течение 2 минут при 3000xg. Перенесите прозрачную жидкость в другую микропробирку и немедленно проведите анализ на альфа-1-антитрипсин.

Экстракция альфа-1-антитрипсина и использованием прочих пробирок

- Взвесьте пустую пробирку.

Соберите образец кала и перенесите его в пробирку. Взвесьте и определите массу нетто образца.

- Внесите EXTRACT в пробирку: 49-кратная масса нетто образца, необходимая для получения разбавления 1:50

Образец кала	+	EXTRACT	Образец кала	+	EXTRACT
15 мг	+	0,75 мл	60 мг	+	2,9 мл
20 мг	+	1,0 мл	70 мг	+	3,4 мл
30 мг	+	1,5 мл	80 мг	+	3,9 мл
40 мг	+	2,0 мл	90 мг	+	4,4 мл
50 мг	+	2,5 мл	100 мг	+	4,9 мл

Закройте пробирку. Используйте вихревой миксер в течение 30 секунд при 1800 об/мин. После этого гомогенизируйте образец в течение 15 минут на самой высокой скорости, используя рокер-шейкер.
Откройте пробирку. Перенесите гомогенат в микропробирку. Центрифугируйте в течение 2 минут при 3000xg.
Перенесите прозрачную жидкость в другую микропробирку и немедленно проведите анализ на альфа-1-антитрипсин.

Экстрагированный образец кала можно хранить при температуре 2-8 °C до 5 дней или при температуре -20 °C до 1 недели.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

EXTRACT

Готов к применению.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

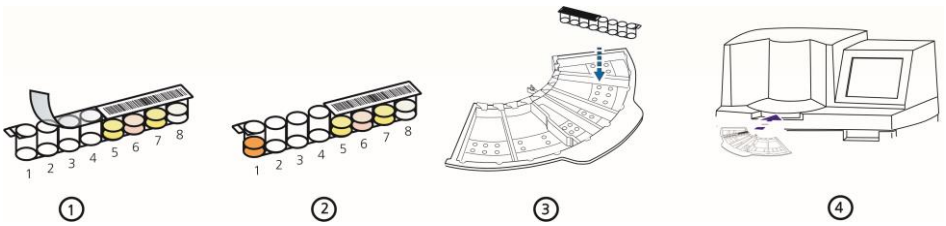
Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл экстрагированного образца кала на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по эталонному препарату альфа-1-антитрипсина.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 80- 3600 мкг/г.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 400 мкг/г

Интерпретация результатов

Нормальный диапазон	< 400 мкг/г
Повышенные значения	> 400 мкг/г

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, образцы, содержащие альфа-1-антитрипсин, были последовательно разбавлены в среде для экстракции образцов кала. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Образец	Фактор	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		(мкг/г)	(мкг/г)	(%)
1	1	2443,0	2443,0	100
	2	1168,8	1221,5	96
	4	581,5	610,8	95
	8	275,0	305,4	95
2	16	156,1	152,7	90
	1	2000,0	2000,0	100
	2	1067,7	1000,0	107
	4	544,8	500,0	109
3	8	266,5	250,0	107
	1	1671,5	1671,5	100
	2	888,7	835,8	106
	4	445,2	417,9	107
	8	244,6	208,9	117

Чувствительность
Минимальная обнаруживаемая концентрация: 139 мкг/г

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 20 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 2 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, мкг/г	КВ, %
1	357,8	5,8
2	660,7	9,0
3	2777,0	6,6

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, мкг/г	КВ, %
1	433,7	5,0
2	2578,4	9,7
3	2736,2	8,7

Субстанции, создающие помехи для анализа
Проведено исследование следующих веществ с 15 мг образца кала. Интерференции со следующими веществами не обнаружено: Ванкомицина гидрохлорид 0,201 мг, Ципрофлоксацин 0,15 мг, Превазид 0,006 мг, Азатиоприн 0,021 мг, Преднизон 0,003 мг, Пентаза 0,399 мг, Витамин А 2,4 МЕ, Витамин С 0,015 мг, Витамин Е 0,03 мг, Витамин D3 0,33 МЕ, Гемоглобин 1,749 мг. Следующие микроорганизмы были протестированы в концентрации 1,1 х 107 КОЕ на 15 мг образца кала и были признаны не демонстрирующими интерференции: *E. coli, Klebsiella pneumoniae, Salmonella enterica, Shigella flexneri, Yersinia enterocolitica*.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Для исследования 171 образца применялся сравнительный метод. Исследуемая популяция включала 60 образцов от доноров, не имеющих симптомов, 38 образцов от госпитализированных пациентов без дополнительной информации и 74 образца от госпитализированных пациентов с диагностированными заболеваниями кишечника или другими заболеваниями органов брюшной полости.

169 из 171 образцов продемонстрировали совпадение результатов, что составляет 98,8 %.

Эталонная методика

		Эталонная методика Пол.	Отр.	
ORG 286	Пол.	52	1	
	Отр.	1	117	
		53	118	171

Чувствительность:	98.1 %
Специфичность:	99.2%
Общая согласованность:	98.8 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны в образцах кала следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) вызывают энтеропатию у 20-65 % пациентов, принимающих данные препараты. Прием НПВП может привести к повышению уровня фекального альфа-1-антитрипсина. В подобных случаях следует рассмотреть возможность повторного определения фекального альфа-1-антитрипсина после прекращения приема НПВС.

.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Rodriguez-Otero P, Porcher R, Peffault de LR, Contreras M, Bouhnik Y, Xhaard A, Andreoli A, Ribaud P, Kape I N, Janin A, Socie G and Robin M:" Fecal calprotectin and Alpha-1-Antitrypsin predict severity and response to corticosteroids in gastrointestinal graft-versus-host disease". *Blood* 2012. **119:** 5909-5917.
2. Hagen LE, Schechter T, Luk Y, Brodovitch A, Gassas A, Doyle JJ:"High Alpha-1-Antitrypsin clearance predicts severity of gut graft-versushost disease (GVHD) in children". *Pediatr Transplant.* 2011 ;15(6):659-663.
3. Umar SB and DiBaise JK: "Protein-losing enteropathy: case illustrations and clinical review". *Am J Gastroenterol* 2010. 105: 43-49.
4. Braamskamp MJ, Dolman KM, and TabbersMM, Clinical practice:" Protein-losing enteropathy in children". *Eur J Pediatr* 2010. **169:** 1179-1185.
5. Biancone L, Onali S, Calabrese E, Petruzziello C, Zorzi F, Condino G, Sica GS, and Pallone F: "Non-invasive techniques for assessing postoperative recurrence in Crohn's disease". *Dig.Liver Dis* 2008. **40 Suppl 2:** S265- S270.
6. Faust D, Raschke K, Hermann S, Milovic V, Stein J:"Regulation of alpha-1-proteinase inhibitor release by proinflammatory cytokines in human intestinal epithelial cells". Clin Exp Immunol. 2002 May; 128(2):279-84.

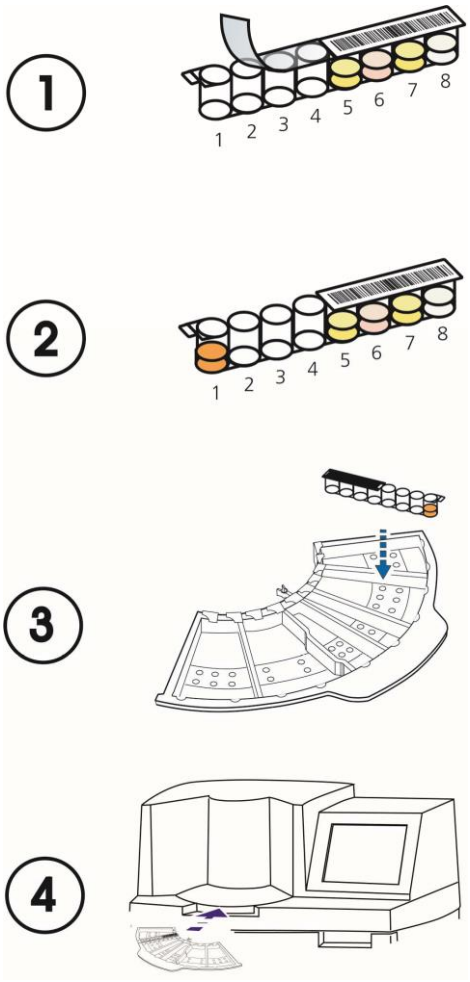
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7. Faust D, Spirchez Z, Armbruster FP, and Stein J:" Determination of alpha-1-proteinase inhibitor by a new enzyme linked immunosorbent assay in feces, serum and an enterocyte-like cell line". *Z.Gastroenterol* 2001. **39:** 769-774.
8. Becker K, Fueling T, and Haussinger D:" Quantification of fecal Alpha-1-Antitrypsin excretion for assessment of inflammatory bowel diseases". *Eur J Med Res* 1998. 3: 65-70.
9. Choudhary S, Gibson PR, Deacon MC, Young GP:"Measurement of faecal Alpha-1-Antitrypsin: methodologies and clinical application". J Gastroenterol Hepatol. 1996 Apr;11(4):311-8.
10. Arndt B, Schürmann G, Betzler M, Herfarth C, Schmidt-Gayk H/'Assessment of Crohn's disease activity and alpha 1-antitrypsin in faeces". Lancet. 1992 Oct 24, 340(8826):1037.
11. Boege F and Fischbach W:" Structural heterogeneity of faecal Alpha-1-Antitrypsin shown by immunoblot analysis in patients with Crohn's disease". *Gut* 1991.**32:** 496-499.
12. Strygler B, Nicar MJ, Santangelo WC, Porter JL, Fordtran JS:" Alpha-1-Antitrypsin excretion in stool in normal subjects and in patients with gastrointestinal disorders". Gastroenterology. 1990 Nov; 99(5):1380-7.
13. Karbach U, Ewe K:"Enteric protein loss in various gastrointestinal diseases determined by intestinal Alpha-1- Antitrypsin clearance". Z Gastroenterol. 1989 Jul; 27(7):362-5.
14. Bjarnason I. Gastrointestinal safety of NSAIDs and over-the-counter analgesics. I nt J Clin Pract Suppl. 2013 (178):37-42.
15. Bjarnason I, Zanelli G, Prouse P, Smethurst P, Smith T, Levi S, et al. Blood and protein loss via small-intestinal inflammation induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs. Lancet. 1987;2(8561):711-4.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 286_IFU_EN_QM151962_2016-07-28_1*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

282_3

ORG 282 Stool Extraction Tubes

НАИМЕНОВАНИЕ И НАЗНАЧЕНИЕ

Пробирки для экстракции образцов кала — это принадлежность для экстракции образцов кала для анализа с помощью анализаторов кала ORGENTEC (ORG 280, ORG 284, ORG 286, ORG 580). Предназначено только для профессионального лабораторного использования.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
100	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
282_3	Электронная инструкция по применению: версия

СОДЕРЖАНИЕ

100 ORG 282 Достаточно для 100 определений
Набор содержит 100 пробирок для экстракции кала, упакованных в две части:
Часть A: 100 пустых прозрачных пробирок
Часть B: 100 оранжевых дозирующих шпателей с синей конусообразной вставкой

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Обращайтесь с образцами кала как с потенциально инфицированным материалом.
- Утилизируйте использованные экстракционные пробирки как потенциально инфекцированные отходы. Не использовать повторно!
- Утилизируйте неиспользованные экстракционные пробирки как пластиковые отходы.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить при комнатной температуре 10- 30 °C.

МАТЕРИАЛЫ, ТРЕБУЕМЫЕ ДЛЯ ЭКСТРАКЦИИ

- Используйте среду для экстракции из соответствующего анализа кала ORGENTEC,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

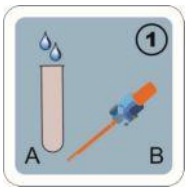
например, F5126 Среда для экстракции образцов кала. Продукт F5126 приобретается отдельно.

- Вихревая мешалка.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ КАЛА

Внимательно ознакомьтесь с инструкцией по применению соответствующего набора для анализа кала ORGENTEC.

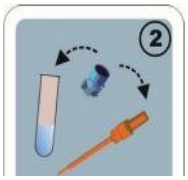
ПРОЦЕДУРА ЭКСТРАКЦИИ



1 Подготовьте пробирку

Внесите среду для экстракции в прозрачную пробирку (часть A).

Объем указан в инструкции по применению соответствующего набора для анализа кала ORGENTEC.



2 Возьмите шпатель

Снимите оранжевый дозирующий шпатель с синей конусообразной вставкой (часть B).

Затяните синюю конусообразную вставку в пробирку (часть A).

3 Забор образца кала

Соберите образец кала, отобрав его оранжевым дозирующим шпателем. Углубления шпателя должны быть полностью покрыты образцом кала. Таким образов вы соберете 15 мг кала. Проведите кончиком оранжевого дозирующего шпателя по бумаге, чтобы удалить излишки кала. Надавите оранжевым дозирующим шпателем с синей конусообразной вставкой на пробирку. Излишек кала останется на синей конусообразной вставке.

4 Экстракция

Тщательно перемешайте или используйте вихревой миксер для удаления образцов кала из углублений шпателя. Инкубируйте и приступайте к следующему этапу согласно инструкции по применению соответствующего набора для анализа кала ORGENTEC.

Важные примечание

- Образцы кала должны использоваться при комнатной температуре.
- Неоднородные образцы должны быть гомогенизированы перед отбором проб, например, с помощью инокуляционной петли.
- Наша рекомендация: взвешивайте жидкие образцы кала (15 мг).
- Наша рекомендация: немедленно проанализируйте экстрагированный образец кала или храните его согласно инструкции по применению соответствующего набора для анализа кала ORGENTEC.

Контроль за изменениями

Предыдущая версия: *ORG 282_IFU_EN_QM 131063_2021-06-21_2*

Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

234A_4

ORG 234A Anti-Gliadin IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Gliadin IgA предназначена для количественного определения антител класса IgA к глиадину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Определение антител к глиадину может помочь в диагностике энтеропатий, связанных с глютеном, например, целиакии. Лабораторные исследования на наличие аутоантител, специфичных для данного заболевания, способствуют его диагностике, наряду с клиническими наблюдениями и гистологическим исследованием слизистой оболочки тонкого кишечника.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
8°C 2°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
234A_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Глиадин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

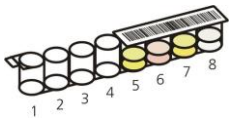
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Gliadin IgA** на печатной этикетке: **Glia-lgA**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

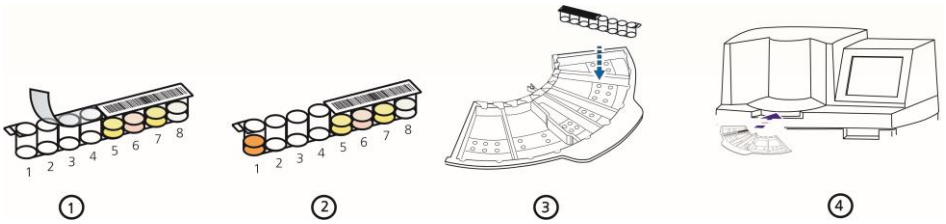
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 12 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 12 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 12 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	78,1	78,1	100
	1:200	41,2	39,0	106
	1:400	20,7	19,0	109
	1:800	8,6	9,0	96
2	1:100	84,9	84,9	100
	1:200	44,8	42,0	107

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	19,4	21,0	92
	1:800	9.3	10.0	93
3	1:100	63.6	63.6	100
	1:200	36.9	32.0	115
	1:400	17.1	16.0	107
	1:800	8.5	8.0	106

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	17,4	4,1
2	30,6	5,9
3	67,2	5,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	22,7	7,7
2	40,5	8,9
3	88,7	93

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Целиакия	40	26	65,0
Нормальная человеческая сыворотка	50	1	2,0

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 234A	Пол.	26	1	
Anti-Gliadin IgA	Отр.	14	49	
		40	50	90

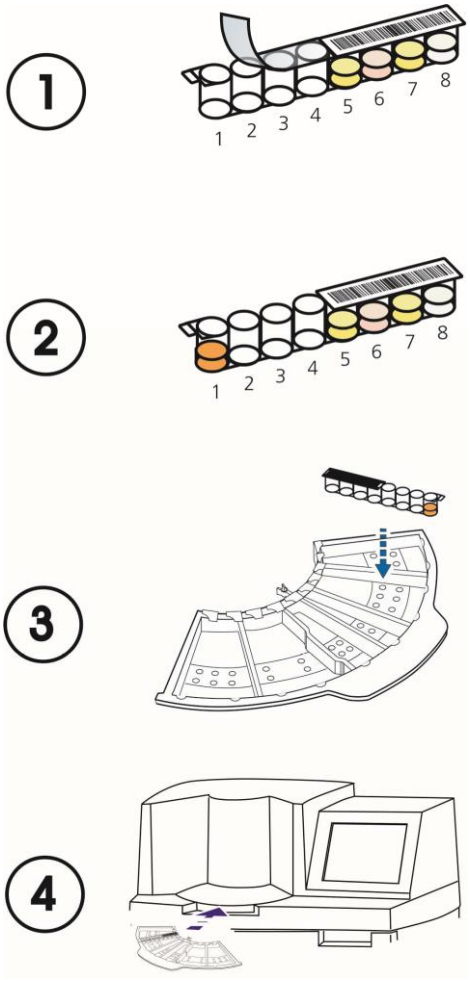
Чувствительность:	65.0 %
Специфичность:	98.0 %
Общая согласованность:	83.3 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alessio M, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, Florena A, Schiaffino E, Marus W, Sulfaro S, Villalta D: Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease: A multicentre study. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2011.
2. Cummins AG, Roberts-Thomson IC: Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. J Gastroenterol. Hepatol. 2009, 24:1347-1351.
3. Giersiepen K, Leigemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR: Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:229-241.
4. Green PH, Cellier C: Celiac disease. N. Engl. J Med. 2007, 357:1731-1743.
5. Gupta R, Reddy DN, Makharia GK, Sood A, Ramakrishna BS, Yachha SK, Thapa BR, Banerjee R, An и rad ha S, Dutta U, Puri AS, Jain AK, Mulder CJ, Kumar A, Boindala S: Indian task force for celiac disease: current status. World J Gastroenterol. 2009, 15:6028-6033.
6. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Lelgeman M, Maki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP: European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:136-160.
7. Mahadov S, Green PH: Celiac disease: a challenge for all physicians. Gastroenterol. Hepatol.(N Y) 2011,7:554 -556.
8. Marietta EV, Rashtak S, Murray JA: Correlation analysis of celiac sprue tissue transglutaminase and deamidated gliadin IgG/lgA. World J Gastroenterol. 2009, 15:845-848.
9. Murray JA: Serodiagnosis of celiac disease. Clin. Lab. Med. 1997, 17:445-464.
10. Rubio-Tapia A, Murray JA: Celiac disease. Curr. Opin. Gastroenterol. 2010, 26:116-122.
11. Telega G, Bennet TR, Werlin S: Emerging new clinical patterns in the presentation of celiac disease. Arch. Pediatr. Adolesc. Med 2008, 162:164-168.
12. Tjon JM, van BJ, Koning F: Celiac disease: how complicated can it get? Immunogenetics 2010, 62:641-651.
13. van der Windt DA, Jellema P, Mulder CJ, Kneepkens CM, van der Horst HE: Diagnostic testing for celiac disease among patients with abdominal symptoms: a systematic review. JAMA 2010, 303:1738-1746.
14. Villalta D, Tonutti E, Prause C, Koletzko S, Uhlig HH, Vermeersch P, Bossuyt X, Stern M, Laass MW, Ellis JH, Ciclitira PJ, Richter T, Daehn rich C, Schlumberger W, Mothes T: IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. Clin. Chem. 2010, 56:464-468.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

234G_4

ORG 234G Anti-Gliadin IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Gliadin IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к глиадину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Определение антител к глиадину может помочь в диагностике энтеропатий, связанных с глютеном, например, целиакии. Лабораторные исследования на наличие аутоантител, специфичных для данного заболевания, способствуют его диагностике, наряду с клиническими наблюдениями и гистологическим исследованием слизистой оболочки тонкого кишечника.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
8°C 2°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
234G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Глиадин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

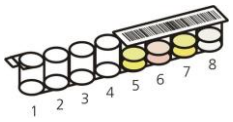
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Gliadin IgG** на печатной этикетке: **Glia- lgG**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °С.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

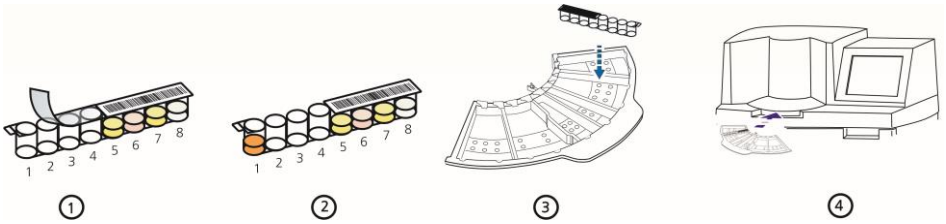
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 12 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 12 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 12 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	89,3	89,3	100
	1:200	42,3	44,7	95
	1:400	24,3	22,3	109
	1:800	11,5	11,2	103
2	1:100	65,2	65,2	100
	1:200	31,2	32,6	96

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	14,9	16,3	91
	1:800	8,5	8,2	104
3	1:100	92,1	92,1	100
	1:200	43,9	46,1	95
	1:400	22,1	23,0	96
	1:800	11,2	11,5	97

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	17,2	4,7
2	33,4	3,5
3	58,7	4,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	17,9	7,5
2	33,2	9,4
3	56,6	54

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Целиакия	40	36	90,0
Нормальная человеческая сыворотка	50	1	2,0

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 234G	Пол.	36	1	
Anti-Gliadin IgG	Отр.	4	49	
		40	50	90

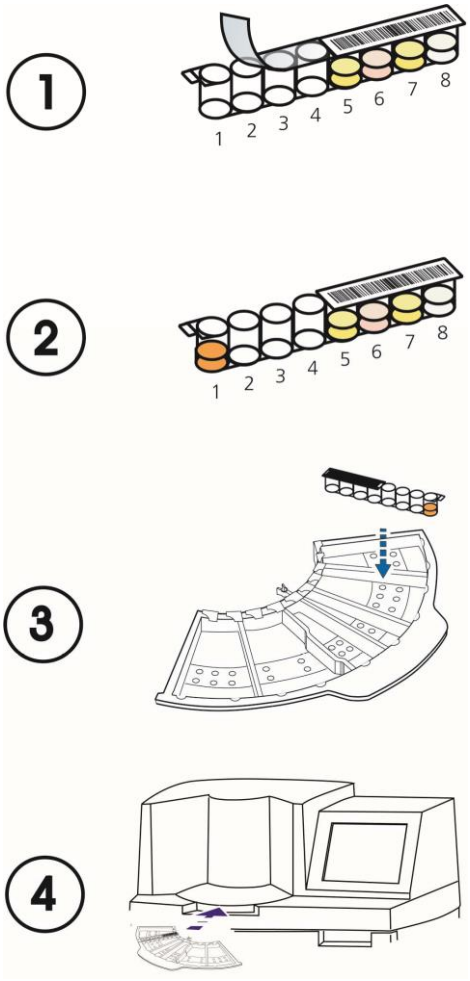
Чувствительность:	90.0 %
Специфичность:	98.0 %
Общая согласованность:	94.4 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alessio M, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, Florena A, Schiaffino E, Marus W, Sulfaro S, Villalta D: Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease: A multicentre study. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2011.
2. Cummins AG, Roberts-Thomson IC: Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. J Gastroenterol. Hepatol. 2009, 24:1347-1351.
3. Giersiepen K, Leigemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR: Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:229-241.
4. Green PH, Cellier C: Celiac disease. N. Engl. J Med. 2007, 357:1731-1743.
5. Gupta R, Reddy DN, Makharia GK, Sood A, Ramakrishna BS, Yachha SK, Thapa BR, Banerjee R, An и rad ha S, Dutta U, Puri AS, Jain AK, Mulder CJ, Kumar A, Boindala S: Indian task force for celiac disease: current status. World J Gastroenterol. 2009, 15:6028-6033.
6. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Lelgeman M, Maki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP: European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:136-160.
7. Mahadov S, Green PH: Celiac disease: a challenge for all physicians. Gastroenterol. Hepatol.(N Y) 2011,7:554 -556.
8. Marietta EV, Rashtak S, Murray JA: Correlation analysis of celiac sprue tissue transglutaminase and deamidated gliadin IgG/lgA. World J Gastroenterol. 2009, 15:845-848.
9. Murray JA: Serodiagnosis of celiac disease. Clin. Lab. Med. 1997, 17:445-464.
10. Rubio-Tapia A, Murray JA: Celiac disease. Curr. Opin. Gastroenterol. 2010, 26:116-122.
11. Telega G, Bennet TR, Werlin S: Emerging new clinical patterns in the presentation of celiac disease. Arch. Pediatr. Adolesc. Med 2008, 162:164-168.
12. Tjon JM, van BJ, Koning F: Celiac disease: how complicated can it get? Immunogenetics 2010, 62:641-651.
13. van der Windt DA, Jellema P, Mulder CJ, Kneepkens CM, van der Horst HE: Diagnostic testing for celiac disease among patients with abdominal symptoms: a systematic review. JAMA 2010, 303:1738-1746.
14. Villalta D, Tonutti E, Prause C, Koletzko S, Uhlig HH, Vermeersch P, Bossuyt X, Stern M, Laass MW, Ellis JH, Ciclitira PJ, Richter T, Daehn rich C, Schlumberger W, Mothes T: IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. Clin. Chem. 2010, 56:464-468.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

234S_4

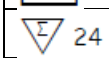
ORG 234S Anti-Gliadin Screen

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Gliadin Screen предназначена для количественного определения антител класса IgG и IgA к глиадину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Определение антител к глиадину может помочь в диагностике энтеропатий, связанных с глютеном, например, целиакии. Лабораторные исследования на наличие аутоантител, специфичных для данного заболевания, способствуют его диагностике, наряду с клиническими наблюдениями и гистологическим исследованием слизистой оболочки тонкого кишечника.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
234S_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Глиадин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

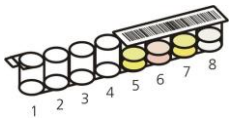
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP , антитела класса IgG и IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Gliadin Screen** на печатной этикетке: **Glia-Scr**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

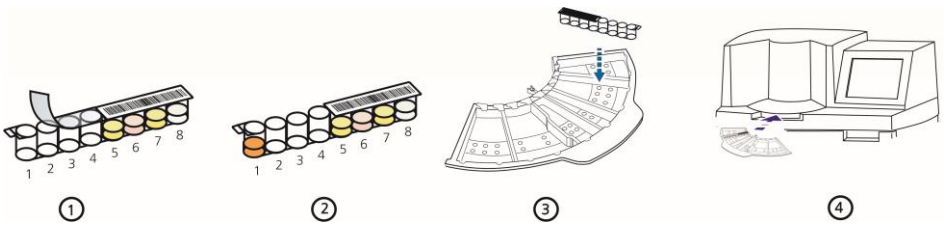
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 15 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 15 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 15 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	98,6	98,6	100
	1:200	49,6	49,3	101
	1:400	24,5	24,7	99
	1:800	12,0	12,3	97
2	1:100	75,6	75,6	100
	1:200	38,1	37,8	101

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	18,6	18,9	98
	1:800	9,4	9,5	99
3	1:100	69,8	69,8	100
	1:200	34,6	34,9	99
	1:400	17,7	17,5	101
	1:800	8,9	8,7	102

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	22,6	2,7
2	43,5	5,5
3	84,1	5,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	22,1	4,9
2	42,9	4,0
3	87,4	8,1

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Целиакия	100	97	97,0
Нормальная человеческая сыворотка	150	2	1,3

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 234S	Пол.	97	2	
Anti-Gliadin Screen	Отр.	3	148	
		100	150	250

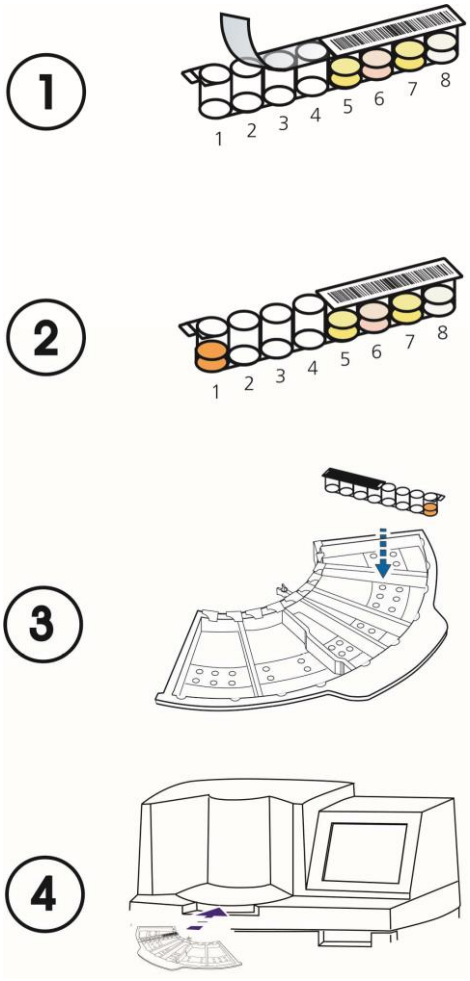
Чувствительность:	97.0 %
Специфичность:	98.7 %
Общая согласованность:	98.0 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Alessio M, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, Florena A, Schiaffino E, Marus W, Sulfaro S, Villalta D: Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease: A multicentre study. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2011.
2. Cummins AG, Roberts-Thomson IC: Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. J Gastroenterol. Hepatol. 2009, 24:1347-1351.
3. Giersiepen K, Leigemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR: Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:229-241.
4. Green PH, Cellier C: Celiac disease. N. Engl. J Med. 2007, 357:1731-1743.
5. Gupta R, Reddy DN, Makharia GK, Sood A, Ramakrishna BS, Yachha SK, Thapa BR, Banerjee R, An и rad ha S, Dutta U, Puri AS, Jain AK, Mulder CJ, Kumar A, Boindala S: Indian task force for celiac disease: current status. World J Gastroenterol. 2009, 15:6028-6033.
6. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Lelgeman M, Maki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP: European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:136-160.
7. Mahadov S, Green PH: Celiac disease: a challenge for all physicians. Gastroenterol. Hepatol.(N Y) 2011,7:554 -556.
8. Marietta EV, Rashtak S, Murray JA: Correlation analysis of celiac sprue tissue transglutaminase and deamidated gliadin IgG/lgA. World J Gastroenterol. 2009, 15:845-848.
9. Murray JA: Serodiagnosis of celiac disease. Clin. Lab. Med. 1997, 17:445-464.
10. Rubio-Tapia A, Murray JA: Celiac disease. Curr. Opin. Gastroenterol. 2010, 26:116-122.
11. Telega G, Bennet TR, Werlin S: Emerging new clinical patterns in the presentation of celiac disease. Arch. Pediatr. Adolesc. Med 2008, 162:164-168.
12. Tjon JM, van BJ, Koning F: Celiac disease: how complicated can it get? Immunogenetics 2010, 62:641-651.
13. van der Windt DA, Jellema P, Mulder CJ, Kneepkens CM, van der Horst HE: Diagnostic testing for celiac disease among patients with abdominal symptoms: a systematic review. JAMA 2010, 303:1738-1746.
14. Villalta D, Tonutti E, Prause C, Koletzko S, Uhlig HH, Vermeersch P, Bossuyt X, Stern M, Laass MW, Ellis JH, Ciclitira PJ, Richter T, Daehn rich C, Schlumberger W, Mothes T: IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. Clin. Chem. 2010, 56:464-468.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

245A_4

ORG 245A ASCA IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система ASCA IgA предназначена для количественного определения антител класса IgA к Saccharomyces cerevisiae методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Точная диагностика воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК), в частности дифференциация между язвенным колитом и болезнью Крона, важна для дальнейшего лечения и прогноза. ASCA тесно связаны с болезнью Крона. Антитела класса IgG и IgA к ASCA демонстрируют высокую специфичность для болезни Крона и свидетельствую в пользу дифференциального диагноза ВЗК в сочетании с другими серологическими маркерами и клиническими исследованиями.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
245A_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Маннан Saccharomyces cerevisiae высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

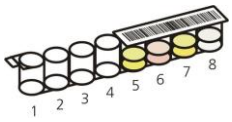
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **ASCA IgA** на печатной этикетке: ***ASCA IgA***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50x.

SYSTEM FLUID 1x 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 x.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

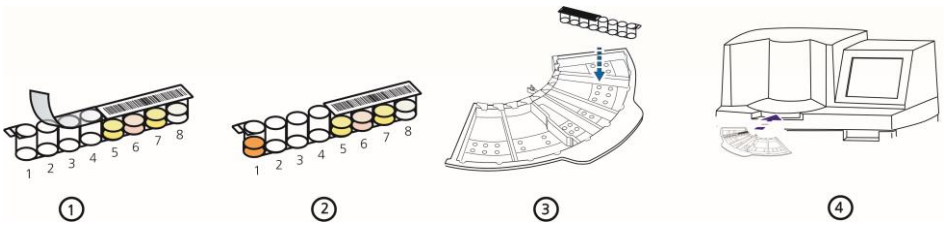
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	83,0	83,0	100
	1:200	42,6	41,5	103
	1:400	21,3	20,8	103
	1:800	10,2	10,4	98
2	1:100	69,3	69,3	100
	1:200	33,2	34,7	96

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	17,6	17,3	102
	1:800	8,6	8,7	99
3	1:100	42,1	42,1	100
	1:200	21,6	21,1	103
	1:400	10,3	10,5	98
	1:800	5,2	5,3	99

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	15,8	1,2
2	30,0	0,9
3	83,2	2,6

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	15,7	2,5
2	29,9	5,8
3	79,0	5,6

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Болезнь Крона	72	44	61,1
Нормальная человеческая сыворотка	130	3	2,3

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 245A	Пол.	44	3	
ASCA IgA	Отр.	28	127	
		72	130	202

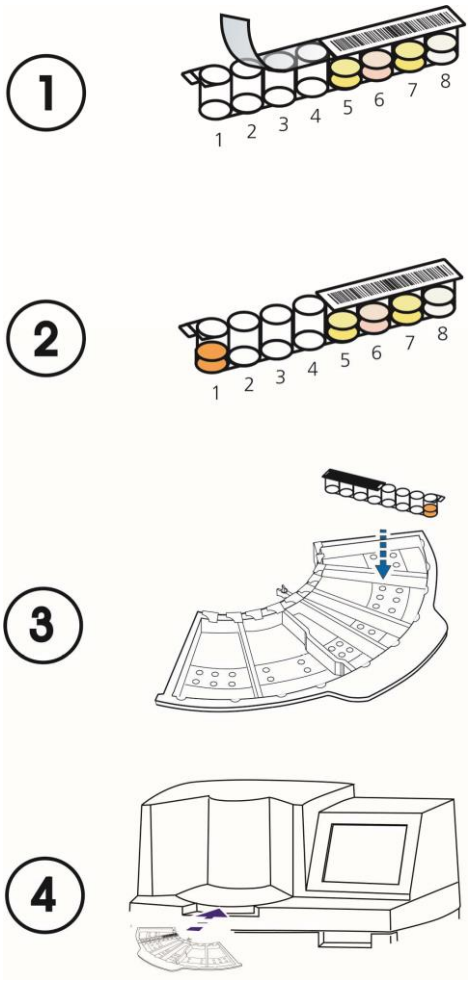
Чувствительность:	61.1%
Специфичность:	97.7%
Общая согласованность:	84.7%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Merck Manual of Diagnosis and Therapy. 1999. Whitehouse Station, N. J. (www.merck.com/pubs/mmanual).
2. Sendid, B., J. F. Colom bel, P. M. Jacquinot, C. Faille, J. Fruit, A. Cortot, D. Lucidarme, D. Camus, and D. Poulain. Specific antibody response to oligomannosidic epitopes in Crohn's Disease. Clin. Diag. Lab. Immunol., 1996, 3(2): 219-226.
3. Main, J., H. McKenzie, G. R. Teaman, M. A. Kjerr, D. Robson, and C. R. Pennington. Antibody to Saccharomyces cerevisiae (baker's yeast) in Crohn's disease. Brit. J. Med., 1988, 297: 1105-1106.
4. McKenzie, H., J. Main, C. R. Pennington, and D. Parrat. Antibody to selected strains of Saccharomyces cerevisiae (baker's and brewer's yeast) and Candida albicans in Crohn's disease. Gut, 1990, 31:536-538.
5. Quinton, J.-F., B. Sendid, D. Reumaux, P. Duthilleul, A. Cortot, B. Grandbastien, G. Charrier, S. R. Targan, J.-F. Colombel, and D. Poulain. Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. Gut, 1998, 42: 788 -791.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

245G_4

ORG 245G ASCA IgG

Тест-система ASCA IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к Saccharomyces cerevisiae методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Точная диагностика воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК), в частности дифференциация между язвенным колитом и болезнью Крона, важна для дальнейшего лечения и прогноза. ASCA тесно связаны с болезнью Крона. Антитела класса IgG и IgA к ASCA демонстрируют высокую специфичность для болезни Крона и свидетельствую в пользу дифференциального диагноза ВЗК в сочетании с другими серологическими маркерами и клиническими исследованиями.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
8°C 2°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
245G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Маннан Saccharomyces cerevisiae высокой степени очистки связывается с реакционными лунками. В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

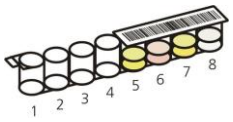
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **ASCA IgG** на печатной этикетке: ***ASCA IgG***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

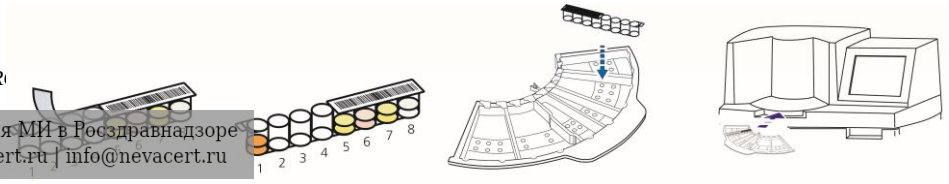
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	75,3	75,3	100
	1:200	38,6	37,7	103
	1:400	18,4	18,8	98
	1:800	9,2	9,4	98
2	1:100	91,3	91,3	100
	1:200	44,3	45,7	97

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	23,1	22,8	101
	1:800	11,6	11,4	102
3	1:100	39,9	39,9	100
	1:200	20,5	20,0	103
	1:400	10,1	10,0	101
	1:800	4,9	5,0	98

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,4	2,6
2	40,6	1,4
3	76,0	5,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	13,1	4,7
2	40,2	4,0
3	74,1	74

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Болезнь Крона	72	54	75,0
Нормальная человеческая сыворотка	130	3	2,3

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 245G	Пол.	54	3	
ASCA IgG	Отр.	18	127	
		72	130	202

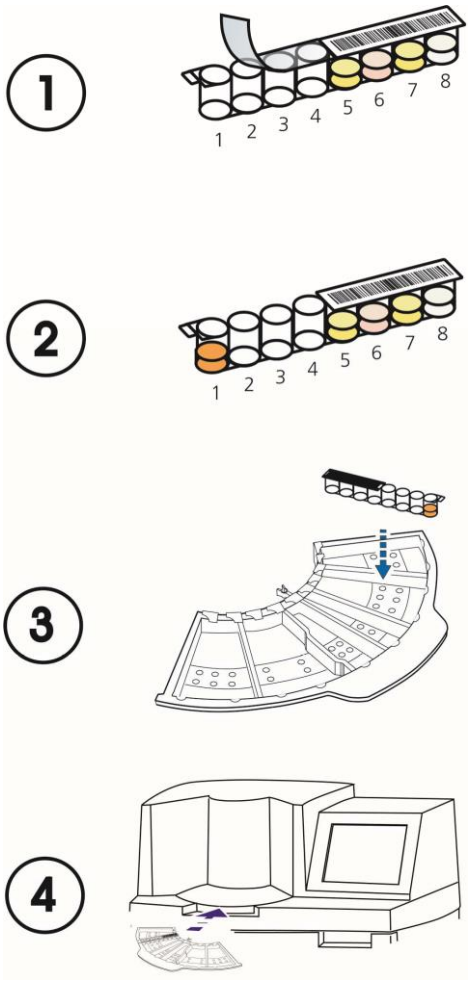
Чувствительность:	75.0%
Специфичность:	97.7%
Общая согласованность:	89.6%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Merck Manual of Diagnosis and Therapy. 1999. Whitehouse Station, N. J. (www.merck.com/pubs/mmanual).
2. Sendid, B., J. F. Colom bel, P. M. Jacquinot, C. Faille, J. Fruit, A. Cortot, D. Lucidarme, D. Camus, and D. Poulain. Specific antibody response to oligomannosidic epitopes in Crohn’s Disease. Clin. Diag. Lab. Immunol., 1996, 3(2): 219-226.
3. Main, J., H. McKenzie, G. R. Teaman, M. A. Kjerr, D. Robson, and C. R. Pennington. Antibody to Saccharomyces cerevisiae (baker's yeast) in Crohn's disease. Brit. J. Med., 1988, 297: 1105-1106.
4. McKenzie, H., J. Main, C. R. Pennington, and D. Parrat. Antibody to selected strains of Saccharomyces cerevisiae (baker's and brewer's yeast) and Candida albicans in Crohn’s disease. Gut, 1990, 31:536-538.
5. Quinton, J.-F., B. Sendid, D. Reumaux, P. Duthilleul, A. Cortot, B. Grandbastien, G. Charrier, S. R. Targan, J.-F. Colombel, and D. Poulain. Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. Gut, 1998, 42: 788 -791.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

253_4

ORG 253 Anti-LKM-1

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-LKM-1 предназначена для количественного определения антител класса IgG к антигену LKM-1 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антитела к микросомам печени и почек типа 1 (антитела к LKM-1) являются маркерами для дифференциальной диагностики аутоиммунного гепатита (АИГ). Наличие антител к LKM-1 указывает на АИГ-2.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
253_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантный белок типа 1 микросом печени и почек типа 1 (LKM-1) высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

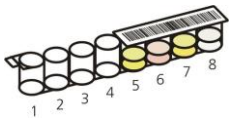
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **LKM-1** на печатной этикетке: **Anti- LKM-1**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

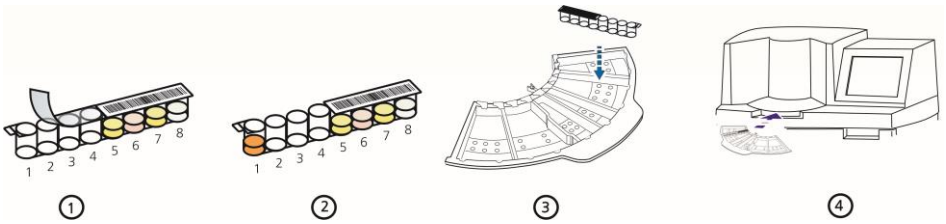
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	104,6	104,6	100
	1:200	51,3	52,3	98
	1:400	24,7	26,2	95
	1:800	12,8	13,1	98
2	1:100	6,6	6,5	101
	1:200	48,1	48,1	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	27,7	24,1	115
	1:800	13,9	12,0	116
3	1:100	6,6	6,0	110
	1:200	24,6	24,6	100
	1:400	12,3	12,3	100
	1:800	7,1	6,2	115

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,7	2,1
2	23,3	2,8
3	51,1	5,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	16,7	4,4
2	27,5	5,2
3	41,7	45

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Аутоиммунный гепатит	129	32	24,8
Ревматические заболевания	159	4	2,5
Целиакия	83	0	0,0
Нормальная человеческая сыворотка	90	1	1,1

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 253	Пол.	32	5	
Anti-LKM-1	Отр.	97	327	
		129	332	461

Чувствительность:	24.8%
Специфичность:	98.5%
Общая согласованность:	77.9%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. F. Alvarez, P. A. Berg, F. B. Bianchi, L. Bianchi, A. K. Burroughs, E. L. Cancado, R. W. Chapman, W. G. Cooksley, A. J. Czaja, V. J.Desmet, P. T. Donaldson, A. L. Eddleston, L. Fainboim, J. Heathcote, J. C. Homberg, J. H. Hoofnagle, S. Kakumu, E. L. Krawitt, I. R. Mackay, R. N. MacSween, W. C. Maddrey, M. P. Manns, I. G. McFarlane, K. H. Meyer zum Buschenfelde, M. Zeniya, and . International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. J Hepatol. 31 (5):929-938, 1999.
2. M. Baeres, J. Herkel, A. J. Czaja, I. Wies, S. Kanzler, E. L. Cancado, G. Porta, M. Nishioka, T. Simon, C. Daehnrich, W. Schlumberger, P. R. Galle, and A. W. Lohse. Establishment of standardised SLA/LP immunoassays: specificity for autoimmune hepatitis, worldwide occurrence, and clinical characteristics Gut 51 (2):259-264, 200
3. D. P. Bogdanos, D. Gilbert, I. Bianchi, S. Leoni, R. R. Mitry, Y. Ma, G. Mieli-Vergani, and D. Vergani. Antibodies to soluble liver antigen and alpha-enolase in patients with autoimmune hepatitis. J Autoimmune.Dis 1 (1):4, 2004.
4. D. P. Bogdanos, P. Invernizzi, I. R. Mackay, and D. Vergani. Autoimmune liver serology: Current diagnostic and clinical challenges. World J Gastroenterol. 14 (21):3374-3387, 2008.
5. D. P. Bogdanos and L. Komorowski. Disease-specific autoantibodies in primary biliary cirrhosis. Clin Chim Acta 412 (7-8):502-512, 2011.
6. D. P. Bogdanos, C. Liaskos, A. Pares, G. Norman, E. I. Rigopoulou, L. Caballeria, G. N. Dalekos, J. Rodes, and D. Vergani. Anti-gp210 antibody mirrors disease severity in primary biliary cirrhosis. Hepatology 45 (6):1583-1584, 2007.
7. D. P. Bogdanos, G. Mieli-Vergani, and D. Vergani. Autoantibodies and their antigens in autoimmune hepatitis. Semin Liver Dis 29 (3):241-253, 2009.
8. A. J. Czaja. Autoimmune hepatitis and viral infection Gastroenterol.Clin North Am 23 (3):547-566, 1994.
9. A. J. Czaja, H. A. Carpenter, and M. P. Manns. Antibodies to soluble liver antigen, P450IID6, and mitochondrial complexes in chronic hepatitis. Gastroenterology 105 (5):1522-1528, 1993.
10. A. J. Czaja and H. A. Homburger. Autoantibodies in liver disease. Gastroenterology 120 (1):239-249, 2001.
11. A. Granito, L. Muratori, P. Muratori, G. Pappas, M. Guidi, F. Cassani, U. Volta, A. Ferri, M. Lenzi, and F. B. Bianchi. Antibodies to filamentous actin (F-actin) in type 1 autoimmune hepatitis. J Clin.Pathol. 59 (3):280-284, 2006.
12. M. Gueguen, M. Meunier-Rotival, O. Bernard, and F. Alvarez. Anti-liver kidney microsome antibody

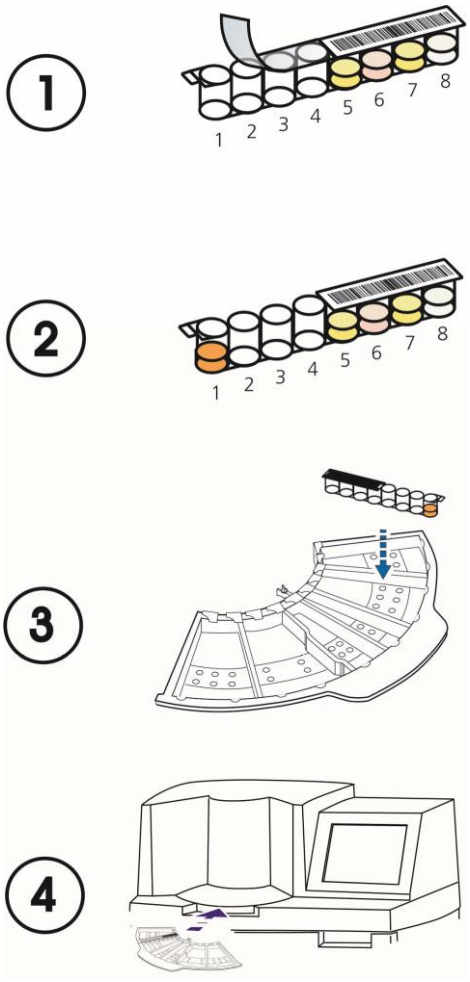
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

recognizes a cytochrome P450 from the HD subfamily. J Exp Med 168 (2):801-806, 1988.
13. C. J. Hu, F. C. Zhang, Y. Z. Li, and X. Zhang. Primary biliary cirrhosis: what do autoantibodies tell us? World J Gastroenterol. 16 (29):3616-3629, 2010.
14. E. L. Krawitt. Autoimmune hepatitis. N.Engl.J Med 354 (1):54-66, 2006.
15. M. Lenzi, P. Manotti, L. Muratori, M. Cataleta, G. Ballardini, F. Cassani, and F. B. Bianchi. Liver cytosolic 1 antigen-antibody system in type 2 autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection. Gut 36 (5):749-754, 1995.
16. G. Maggiore, S. Riva, and M. Sciveres. Autoimmune diseases of the liver and biliary tract and overlap syndromes in childhood Minerva Gastroenterol.DietoI. 55 (1):53-70, 2009.
17. M. P. Manns and A. Vogel. Autoimmune hepatitis, from mechanisms to therapy. Hepatology 43 (2 Suppl 1): S132-S144, 2006.
18. L. Muratori, A. Granito, P. Muratori, G. Pappas, and F. B. Bianchi. Antimitochondrial antibodies and other antibodies in primary biliary cirrhosis: diagnostic and prognostic value. Clin Liver Dis 12 (2):261-276, 2008.
19. P. Muratori, A. Granito, G. Pappas, G. M. Pendino, C. Quarneti, R. Cicola, R. Menichella, S. Ferri, F. Cassani, F. B. Bianchi, M. Lenzi, and L. Muratori. The serological profile of the autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome Am J Gastroenterol. 104 (6): 1420-1425, 2009.
20. P. Obermayer-Straub, C. P. Strassburg, and M. P. Manns. Autoimmune hepatitis. J Hepatol. 32 (1 Suppl):181 -197, 2000.
21. E. I. Rigopoulou, M. Mytilinaiou, O. Romanidou, C. Liaskos, and G. N. Dalekos. Autoimmune hepatitis-specific antibodies against soluble liver antigen and liver cytosol type 1 in patients with chronic viral hepatitis. J Autoimmune.Dis 4:2, 2007.
22. D. Vergani, F. Alvarez, F. B. Bianchi, E. L. Cancado, I. R. Mackay, M. P. Manns, M. Nishioka, and E. Penner. Liver autoimmune serology: a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group J Hepatol. 41 (4):677-683, 2004.
23. D. Villalta, N. Bizzaro, Re M. Da, R. Tozzoli, L. Komorowski, and E. Tonutti. Diagnostic accuracy of four different immunological methods for the detection of anti-F-actin autoantibodies in type 1 autoimmune hepatitis and other liver-related disorders. Autoimmunity 41 (1):105-110, 2008.
24. I. Wies, S. Brunner, J. Henninger, J. Herkel, S. Kanzler, K.H., and A. W. Lohse. Identification of target antigen forSLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis. Lancet 355 (9214):1510-1515, 2000.
25. H. J. Worman and J. C. Courvalin. Antinuclear antibodies specific for primary biliary cirrhosis. Autoimmun.Rev 2 (4):211-217, 2003.
26. K. Zachou, E. Rigopoulou, and G. N. Dalekos. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis: important tools in clinical practice and to study pathogenesis of the disease. J Autoimmune.Dis 1 (1):2, 2004.
27. A. Zamanou, A. Tsirogianni, C. Terzoglou, A. Balafas, I. Economidou, and P. Lymberi. Anti-smooth muscle antibodies (ASMAs) and anti-cytoskeleton antibodies (ACTAs) in liver diseases: a comparison of classical indirect immunofluorescence with ELISA. J.Clin Lab Anal. 16 (4):194-201,2002.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 253_IFU_EN_QM113117_2016-04-18_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

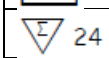
254_4

ORG 254 Anti-Sp100

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Sp100 предназначена для количественного определения антител класса IgG к ядерному белку Sp100 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Антинуклеарные антитела (АНА), вступающие в реакцию с антигеном ядерного белка sp100, являются важными маркерами для дифференциальной диагностики первичного билиарного цирроза, особенно в случаях первичного билиарного цирроза с отрицательным результатом на АМА-М2.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
254_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантный ядерный белок Sp100 высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

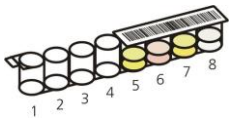
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Sp100** на печатной этикетке: **Sp100**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

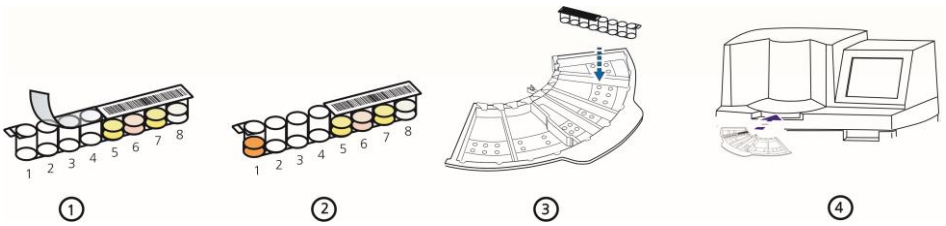
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	103,3	103,3	100
	1:200	45,9	51,7	89
	1:400	24,5	25,8	95
	1:800	12,2	12,9	94
2	1:100	6,2	6,5	96

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	78,0	78,0	100
	1:400	42,3	39,0	109
	1:800	20,1	19,5	103
3	1:100	11,1	9,7	114
	1:200	111,7	111,7	100
	1:400	62,5	67,0	93
	1:800	34,7	33,5	104

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	9,2	4,0
2	15,3	8,6
3	31,1	5,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	9,3	7,3
2	15,6	8,3
3	34,5	58

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Первичный билиарный цирроз	128	33	25,8
Контрольная сыворотка заболевания Системная красная	48	0	0,0
Контрольная сыворотка заболевания Ревматоидный артрит	149	2	1,3
Нормальная человеческая сыворотка	450	1	0,2

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 254	Пол.	33	3	
Anti-Sp100	Отр.	95	644	
		128	647	775

Чувствительность:	25.8%
Специфичность:	99.5%
Общая согласованность:	87.4%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. F. Alvarez, P. A. Berg, F. B. Bianchi, L. Bianchi, A. K. Burroughs, E. L. Cancado, R. W. Chapman, W. G. Cooksley, A. J. Czaja, V. J.Desmet, P. T. Donaldson, A. L. Eddleston, L. Fainboim, J. Heathcote, J. C. Homberg, J. H. Hoofnagle, S. Kakumu, E. L. Krawitt, I. R. Mackay, R. N. MacSween, W. C. Maddrey, M. P. Manns, I. G. McFarlane, K. H. Meyer zum Buschenfelde, M. Zeniya, and . International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. J Hepatol. 31 (5):929-938, 1999.
2. M. Baeres, J. Herkel, A. J. Czaja, I. Wies, S. Kanzler, E. L. Cancado, G. Porta, M. Nishioka, T. Simon, C. Daehnrich, W. Schlumberger, P. R. Galle, and A. W. Lohse. Establishment of standardised SLA/LP immunoassays: specificity for autoimmune hepatitis, worldwide occurrence, and clinical characteristics Gut 51 (2):259-264, 200
3. D. P. Bogdanos, D. Gilbert, I. Bianchi, S. Leoni, R. R. Mitry, Y. Ma, G. Mieli-Vergani, and D. Vergani. Antibodies to soluble liver antigen and alpha-enolase in patients with autoimmune hepatitis. J Autoimmune.Dis 1 (1):4, 2004.
4. D. P. Bogdanos, P. Invernizzi, I. R. Mackay, and D. Vergani. Autoimmune liver serology: Current diagnostic and clinical challenges. World J Gastroenterol. 14 (21):3374-3387, 2008.
5. D. P. Bogdanos and L. Komorowski. Disease-specific autoantibodies in primary biliary cirrhosis. Clin Chim Acta 412 (7-8):502-512, 2011.
6. D. P. Bogdanos, C. Liaskos, A. Pares, G. Norman, E. I. Rigopoulou, L. Caballeria, G. N. Dalekos, J. Rodes, and D. Vergani. Anti-gp210 antibody mirrors disease severity in primary biliary cirrhosis. Hepatology 45 (6):1583-1584, 2007.
7. D. P. Bogdanos, G. Mieli-Vergani, and D. Vergani. Autoantibodies and their antigens in autoimmune hepatitis. Semin Liver Dis 29 (3):241-253, 2009.

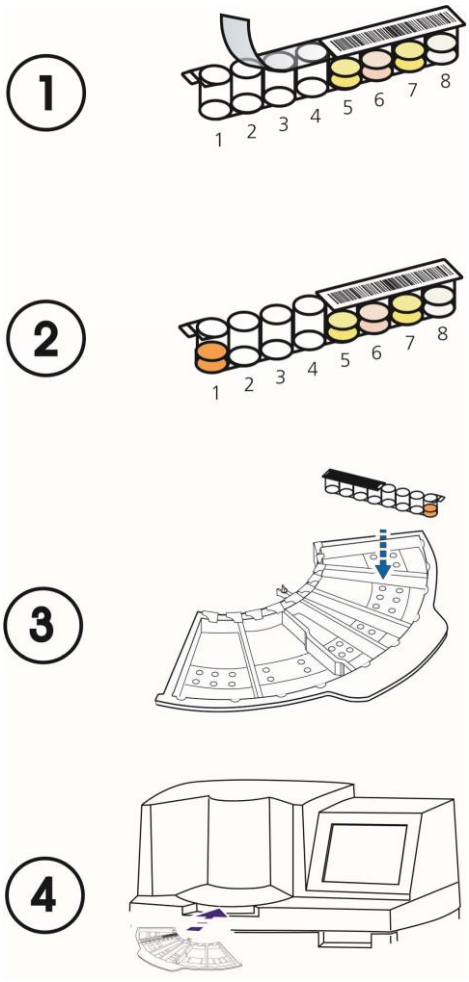
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8. A. J. Czaja. Autoimmune hepatitis and viral infection Gastroenterol.Clin North Am 23 (3):547-566, 1994.
9. A. J. Czaja, H. A. Carpenter, and M. P. Manns. Antibodies to soluble liver antigen, P450IID6, and mitochondrial complexes in chronic hepatitis. Gastroenterology 105 (5):1522-1528, 1993.
10. A. J. Czaja and H. A. Homburger. Autoantibodies in liver disease. Gastroenterology 120 (1):239-249, 2001.
11. A. Granito, L. Muratori, P. Muratori, G. Pappas, M. Guidi, F. Cassani, U. Volta, A. Ferri, M. Lenzi, and F. B. Bianchi. Antibodies to filamentous actin (F-actin) in type 1 autoimmune hepatitis. J Clin.Pathol. 59 (3):280-284, 2006.
12. M. Gueguen, M. Meunier-Rotival, O. Bernard, and F. Alvarez. Anti-liver kidney microsome antibody recognizes a cytochrome P450 from the HD subfamily. J Exp Med 168 (2):801-806, 1988.
13. C. J. Hu, F. C. Zhang, Y. Z. Li, and X. Zhang. Primary biliary cirrhosis: what do autoantibodies tell us? World J Gastroenterol. 16 (29):3616-3629, 2010.
14. E. L. Krawitt. Autoimmune hepatitis. N.Engl.J Med 354 (1):54-66, 2006.
15. M. Lenzi, P. Manotti, L. Muratori, M. Cataleta, G. Ballardini, F. Cassani, and F. B. Bianchi. Liver cytosolic 1 antigen-antibody system in type 2 autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection. Gut 36 (5):749-754, 1995.
16. G. Maggiore, S. Riva, and M. Sciveres. Autoimmune diseases of the liver and biliary tract and overlap syndromes in childhood Minerva Gastroenterol.DietoI. 55 (1):53-70, 2009.
17. M. P. Manns and A. Vogel. Autoimmune hepatitis, from mechanisms to therapy. Hepatology 43 (2 Suppl 1): S132-S144, 2006.
18. L. Muratori, A. Granito, P. Muratori, G. Pappas, and F. B. Bianchi. Antimitochondrial antibodies and other antibodies in primary biliary cirrhosis: diagnostic and prognostic value. Clin Liver Dis 12 (2):261-276, 2008.
19. P. Muratori, A. Granito, G. Pappas, G. M. Pendino, C. Quarneti, R. Cicola, R. Menichella, S. Ferri, F. Cassani, F. B. Bianchi, M. Lenzi, and L. Muratori. The serological profile of the autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome Am J Gastroenterol. 104 6 1420-1425, 2009.
20. P. Obermayer-Straub, C. P. Strassburg, and M. P. Manns. Autoimmune hepatitis. J Hepatol. 32 (1 Suppl):181 -197, 2000.
21. E. I. Rigopoulou, M. Mytilinaiou, O. Romanidou, C. Liaskos, and G. N. Dalekos. Autoimmune hepatitis-specific antibodies against soluble liver antigen and liver cytosol type 1 in patients with chronic viral hepatitis. J Autoimmune.Dis 4:2, 2007.
22. D. Vergani, F. Alvarez, F. B. Bianchi, E. L. Cancado, I. R. Mackay, M. P. Manns, M. Nishioka, and E. Penner. Liver autoimmune serology: a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group J Hepatol. 41 (4):677-683, 2004.
23. D. Villalta, N. Bizzaro, Re M. Da, R. Tozzoli, L. Komorowski, and E. Tonutti. Diagnostic accuracy of four different immunological methods for the detection of anti-F-actin autoantibodies in type 1 autoimmune hepatitis and other liver-related disorders. Autoimmunity 41 (1):105-110, 2008.
24. I. Wies, S. Brunner, J. Henninger, J. Herkel, S. Kanzler, K.H., and A. W. Lohse. Identification of target antigen forSLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis. Lancet 355 (9214):1510-1515, 2000.
25. H. J. Worman and J. C. Courvalin. Antinuclear antibodies specific for primary biliary cirrhosis. Autoimmun.Rev 2 (4):211-217, 2003.
26. K. Zachou, E. Rigopoulou, and G. N. Dalekos. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis: important tools in clinical practice and to study pathogenesis of the disease. J Autoimmune.Dis 1 (1):2, 2004.
27. A. Zamanou, A. Tsirogianni, C. Terzoglou, A. Balafas, I. Economidou, and P. Lymberi. Anti-smooth muscle antibodies (ASMAs) and anti-cytoskeleton antibodies (ACTAs) in liver diseases: a comparison of classical indirect immunofluorescence with ELISA. J.Clin Lab Anal. 16 (4):194-201,2002.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 254_IFU_EN_QM113118_2016-04-18_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

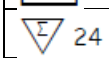
256_4

ORG 256 Anti-gp210

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-gp210 предназначена для количественного определения антител класса IgG к гликопротеину ядерных пор 210 (gp210) методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Антинуклеарные антитела (АНА), вступающие в реакцию с антигеном ядерных пор gp210, являются важными маркерами для дифференциальной диагностики первичного билиарного цирроза, особенно в случаях первичного билиарного цирроза с отрицательным результатом на АМА-М2.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
256_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Гликопротеин 210, рекомбинантный антиген высокой степени очистки, связывается с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

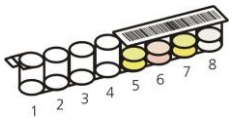
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **gp210** на печатной этикетке: **gp210**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

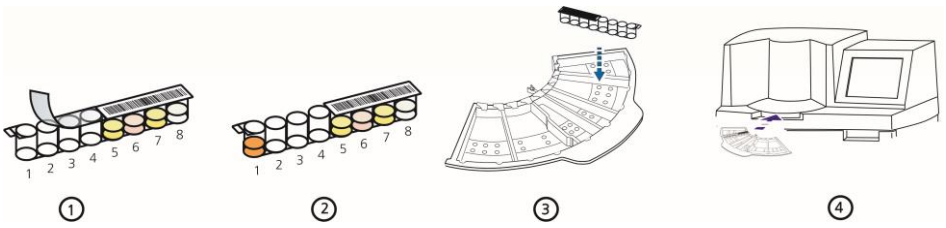
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1 100	35,6	35,6	100
	1:200	20,5	17,8	115
	1:400	10,4	8,9	116
	1:800	5,2	4,5	118
2	1:100	76,4	76,4	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	35,7	38,2	93
	1:400	18,7	19,1	98
	1:800	9,7	9,6	101
3	1:100	5,5	4,8	114
	1:200	95,8	95,8	100
	1:400	44,2	47,9	92
	1:800	23,5	23,9	98

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,4	6,1
2	45,7	7,8
3	88,6	5,0

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	13,1	8,4
2	54,8	4,1
3	83,8	5,1

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Первичный билиарный цирроз	70	19	27,1
Контрольная сыворотка заболевания	27	0	0,0
Нормальная человеческая сыворотка	437	1	0,2

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 256	Пол.	19	1	
Anti-gp210	Отр.	51	463	
		70	464	534

Чувствительность:	27,1%
Специфичность:	99.8%
Общая согласованность:	90.3%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. F. Alvarez, P. A. Berg, F. B. Bianchi, L. Bianchi, A. K. Burroughs, E. L. Cancado, R. W. Chapman, W. G. Cooksley, A. J. Czaja, V. J.Desmet, P. T. Donaldson, A. L. Eddleston, L. Fainboim, J. Heathcote, J. C. Homberg, J. H. Hoofnagle, S. Kakumu, E. L. Krawitt, I. R. Mackay, R. N. MacSween, W. C. Maddrey, M. P. Manns, I. G. McFarlane, K. H. Meyer zum Buschenfelde, M. Zeniya, and . International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. J Hepatol. 31 (5):929-938, 1999.
2. M. Baeres, J. Herkel, A. J. Czaja, I. Wies, S. Kanzler, E. L. Cancado, G. Porta, M. Nishioka, T. Simon, C. Daehnrich, W. Schlumberger, P. R. Galle, and A. W. Lohse. Establishment of standardised SLA/LP immunoassays: specificity for autoimmune hepatitis, worldwide occurrence, and clinical characteristics Gut 51 (2):259-264, 200
3. D. P. Bogdanos, D. Gilbert, I. Bianchi, S. Leoni, R. R. Mitry, Y. Ma, G. Mieli-Vergani, and D. Vergani. Antibodies to soluble liver antigen and alpha-enolase in patients with autoimmune hepatitis. J Autoimmune.Dis 1 (1):4, 2004.
4. D. P. Bogdanos, P. Invernizzi, I. R. Mackay, and D. Vergani. Autoimmune liver serology: Current diagnostic and clinical challenges. World J Gastroenterol. 14 (21):3374-3387, 2008.
5. D. P. Bogdanos and L. Komorowski. Disease-specific autoantibodies in primary biliary cirrhosis. Clin Chim Acta 412 (7-8):502-512, 2011.
6. D. P. Bogdanos, C. Liaskos, A. Pares, G. Norman, E. I. Rigopoulou, L. Caballeria, G. N. Dalekos, J. Rodes, and D. Vergani. Anti-gp210 antibody mirrors disease severity in primary biliary cirrhosis. Hepatology 45 (6):1583-1584, 2007.
7. D. P. Bogdanos, G. Mieli-Vergani, and D. Vergani. Autoantibodies and their antigens in autoimmune hepatitis. Semin Liver Dis 29 (3):241-253, 2009.
8. A. J. Czaja. Autoimmune hepatitis and viral infection Gastroenterol.Clin North Am 23 (3):547-566,

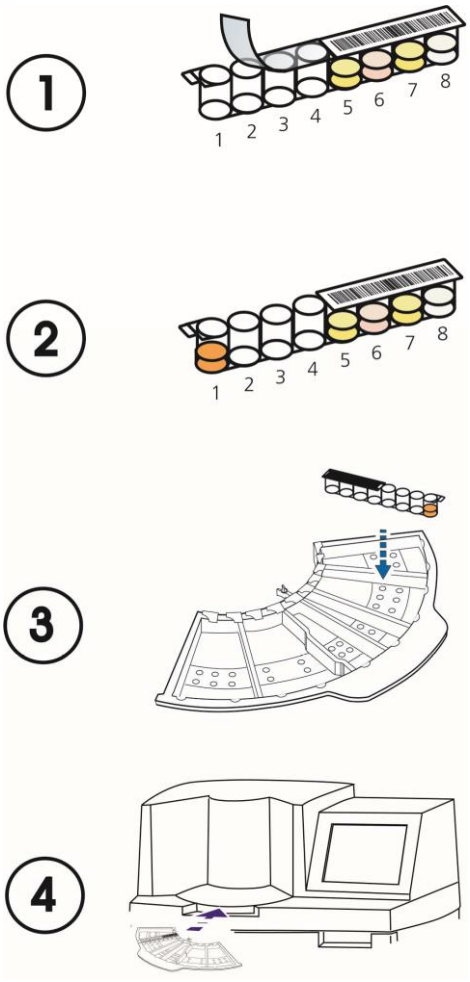
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1994.
9. A. J. Czaja, H. A. Carpenter, and M. P. Manns. Antibodies to soluble liver antigen, P450IID6, and mitochondrial complexes in chronic hepatitis. Gastroenterology 105 (5):1522-1528, 1993.
10. A. J. Czaja and H. A. Homburger. Autoantibodies in liver disease. Gastroenterology 120 (1):239-249, 2001.
11. A. Granito, L. Muratori, P. Muratori, G. Pappas, M. Guidi, F. Cassani, U. Volta, A. Ferri, M. Lenzi, and F. B. Bianchi. Antibodies to filamentous actin (F-actin) in type 1 autoimmune hepatitis. J Clin.Pathol. 59 (3):280-284, 2006.
12. M. Gueguen, M. Meunier-Rotival, O. Bernard, and F. Alvarez. Anti-liver kidney microsome antibody recognizes a cytochrome P450 from the HD subfamily. J Exp Med 168 (2):801-806, 1988.
13. C. J. Hu, F. C. Zhang, Y. Z. Li, and X. Zhang. Primary biliary cirrhosis: what do autoantibodies tell us? World J Gastroenterol. 16 (29):3616-3629, 2010.
14. E. L. Krawitt. Autoimmune hepatitis. N.Engl.J Med 354 (1):54-66, 2006.
15. M. Lenzi, P. Manotti, L. Muratori, M. Cataleta, G. Ballardini, F. Cassani, and F. B. Bianchi. Liver cytosolic 1 antigen-antibody system in type 2 autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection. Gut 36 (5):749-754, 1995.
16. G. Maggiore, S. Riva, and M. Sciveres. Autoimmune diseases of the liver and biliary tract and overlap syndromes in childhood Minerva Gastroenterol.DietoI. 55 (1):53-70, 2009.
17. M. P. Manns and A. Vogel. Autoimmune hepatitis, from mechanisms to therapy. Hepatology 43 (2 Suppl 1): S132-S144, 2006.
18. L. Muratori, A. Granito, P. Muratori, G. Pappas, and F. B. Bianchi. Antimitochondrial antibodies and other antibodies in primary biliary cirrhosis: diagnostic and prognostic value. Clin Liver Dis 12 (2):261-276, 2008.
19. P. Muratori, A. Granito, G. Pappas, G. M. Pendino, C. Quarneti, R. Cicola, R. Menichella, S. Ferri, F. Cassani, F. B. Bianchi, M. Lenzi, and L. Muratori. The serological profile of the autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome Am J Gastroenterol. 104 (6): 1420-1425, 2009.
20. P. Obermayer-Straub, C. P. Strassburg, and M. P. Manns. Autoimmune hepatitis. J Hepatol. 32 (1 Suppl):181 -197, 2000.
21. E. I. Rigopoulou, M. Mytilinaiou, O. Romanidou, C. Liaskos, and G. N. Dalekos. Autoimmune hepatitis-specific antibodies against soluble liver antigen and liver cytosol type 1 in patients with chronic viral hepatitis. J Autoimmune.Dis 4:2, 2007.
22. D. Vergani, F. Alvarez, F. B. Bianchi, E. L. Cancado, I. R. Mackay, M. P. Manns, M. Nishioka, and E. Penner. Liver autoimmune serology: a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group J Hepatol. 41 (4):677-683, 2004.
23. D. Villalta, N. Bizzaro, Re M. Da, R. Tozzoli, L. Komorowski, and E. Tonutti. Diagnostic accuracy of four different immunological methods for the detection of anti-F-actin autoantibodies in type 1 autoimmune hepatitis and other liver-related disorders. Autoimmunity 41 (1):105-110, 2008.
24. I. Wies, S. Brunner, J. Henninger, J. Herkel, S. Kanzler, K.H., and A. W. Lohse. Identification of target antigen forSLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis. Lancet 355 (9214):1510-1515, 2000.
25. H. J. Worman and J. C. Courvalin. Antinuclear antibodies specific for primary biliary cirrhosis. Autoimmun.Rev 2 (4):211-217, 2003.
26. K. Zachou, E. Rigopoulou, and G. N. Dalekos. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis: important tools in clinical practice and to study pathogenesis of the disease. J Autoimmune.Dis 1 (1):2, 2004.
27. A. Zamanou, A. Tsirogianni, C. Terzoglou, A. Balafas, I. Economidou, and P. Lymberi. Anti-smooth muscle antibodies (ASMAs) and anti-cytoskeleton antibodies (ACTAs) in liver diseases: a comparison of classical indirect immunofluorescence with ELISA. J.Clin Lab Anal. 16 (4):194-201,2002.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 254_IFU_EN_QM113118_2016-04-18_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

257_4

ORG 257 Anti-SLA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-SLA предназначена для количественного определения антител класса IgG к растворимому антигену печени методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Обнаружение антител к растворимому антигену печени/антигену печени/поджелудочной железы помогает при дифференциальной диагностике аутоиммунного гепатита. Антитела к растворимым антигенам печени/антигенам печени являются специфическими маркерами АИГ-1, особенно у пациентов, имеющих отрицательную реакцию к обычным аутоантителам к АИГ-1 (ASMA, ANA).

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
257_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантный растворимый антиген печени высокой степени очистки, связывается с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

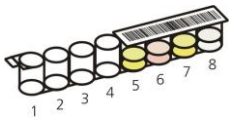
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **SLA** на печатной этикетке: **Anti- SLA**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

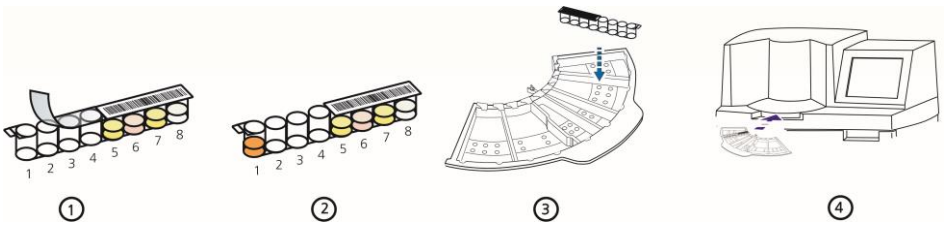
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	93,2	93,2	100
	1:200	52,7	46,6	113
	1:400	17,0	14,6	116
	1:800	8,2	7,3	113
2	1:100	83,0	83,0	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	34,3	41,5	83
	1:400	19,3	20,7	93
	1:800	9,0	10,4	87
3	1:100	5,4	5,2	103
	1:200	76,4	76,4	100
	1:400	35,7	38,2	93
	1:800	18,7	19,1	98

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	6,7	4,8
2	10,0	9,5
3	33,8	9,1

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	6,9	3,7
2	15,8	10,8
3	29,6	86

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Аутоиммунный гепатит (АИГ)	82	33	40,2
Контрольная сыворотка заболевания	197	0	0,0
Нормальная человеческая сыворотка	119	0	0,0

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 257	Пол.	33	0	
Anti-SLA	Отр.	49	316	
		82	316	398

Чувствительность:	40.2%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	87.7%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. F. Alvarez, P. A. Berg, F. B. Bianchi, L. Bianchi, A. K. Burroughs, E. L. Cancado, R. W. Chapman, W. G. Cooksley, A. J. Czaja, V. J.Desmet, P. T. Donaldson, A. L. Eddleston, L. Fainboim, J. Heathcote, J. C. Homberg, J. H. Hoofnagle, S. Kakumu, E. L. Krawitt, I. R. Mackay, R. N. MacSween, W. C. Maddrey, M. P. Manns, I. G. McFarlane, K. H. Meyer zum Buschenfelde, M. Zeniya, and . International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. J Hepatol. 31 (5):929-938, 1999.
2. M. Baeres, J. Herkel, A. J. Czaja, I. Wies, S. Kanzler, E. L. Cancado, G. Porta, M. Nishioka, T. Simon, C. Daehnrich, W. Schlumberger, P. R. Galle, and A. W. Lohse. Establishment of standardised SLA/LP immunoassays: specificity for autoimmune hepatitis, worldwide occurrence, and clinical characteristics Gut 51 (2):259-264, 200
3. D. P. Bogdanos, D. Gilbert, I. Bianchi, S. Leoni, R. R. Mitry, Y. Ma, G. Mieli-Vergani, and D. Vergani. Antibodies to soluble liver antigen and alpha-enolase in patients with autoimmune hepatitis. J Autoimmune.Dis 1 (1):4, 2004.
4. D. P. Bogdanos, P. Invernizzi, I. R. Mackay, and D. Vergani. Autoimmune liver serology: Current diagnostic and clinical challenges. World J Gastroenterol. 14 (21):3374-3387, 2008.
5. D. P. Bogdanos and L. Komorowski. Disease-specific autoantibodies in primary biliary cirrhosis. Clin Chim Acta 412 (7-8):502-512, 2011.
6. D. P. Bogdanos, C. Liaskos, A. Pares, G. Norman, E. I. Rigopoulou, L. Caballeria, G. N. Dalekos, J. Rodes, and D. Vergani. Anti-gp210 antibody mirrors disease severity in primary biliary cirrhosis. Hepatology 45 (6):1583-1584, 2007.
7. D. P. Bogdanos, G. Mieli-Vergani, and D. Vergani. Autoantibodies and their antigens in autoimmune hepatitis. Semin Liver Dis 29 (3):241-253, 2009.
8. A. J. Czaja. Autoimmune hepatitis and viral infection Gastroenterol.Clin North Am 23 (3):547-566,

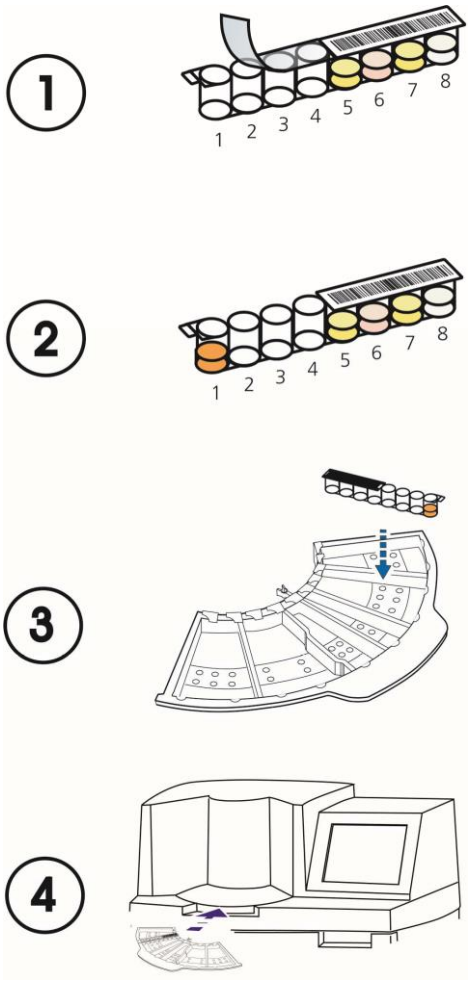
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1994.
9. A. J. Czaja, H. A. Carpenter, and M. P. Manns. Antibodies to soluble liver antigen, P450IID6, and mitochondrial complexes in chronic hepatitis. Gastroenterology 105 (5):1522-1528, 1993.
10. A. J. Czaja and H. A. Homburger. Autoantibodies in liver disease. Gastroenterology 120 (1):239-249, 2001.
11. A. Granito, L. Muratori, P. Muratori, G. Pappas, M. Guidi, F. Cassani, U. Volta, A. Ferri, M. Lenzi, and F. B. Bianchi. Antibodies to filamentous actin (F-actin) in type 1 autoimmune hepatitis. J Clin.Pathol. 59 (3):280-284, 2006.
12. M. Gueguen, M. Meunier-Rotival, O. Bernard, and F. Alvarez. Anti-liver kidney microsome antibody recognizes a cytochrome P450 from the HD subfamily. J Exp Med 168 (2):801-806, 1988.
13. C. J. Hu, F. C. Zhang, Y. Z. Li, and X. Zhang. Primary biliary cirrhosis: what do autoantibodies tell us? World J Gastroenterol. 16 (29):3616-3629, 2010.
14. E. L. Krawitt. Autoimmune hepatitis. N.Engl.J Med 354 (1):54-66, 2006.
15. M. Lenzi, P. Manotti, L. Muratori, M. Cataleta, G. Ballardini, F. Cassani, and F. B. Bianchi. Liver cytosolic 1 antigen-antibody system in type 2 autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection. Gut 36 (5):749-754, 1995.
16. G. Maggiore, S. Riva, and M. Sciveres. Autoimmune diseases of the liver and biliary tract and overlap syndromes in childhood Minerva Gastroenterol.DietoI. 55 (1):53-70, 2009.
17. M. P. Manns and A. Vogel. Autoimmune hepatitis, from mechanisms to therapy. Hepatology 43 (2 Suppl 1): S132-S144, 2006.
18. L. Muratori, A. Granito, P. Muratori, G. Pappas, and F. B. Bianchi. Antimitochondrial antibodies and other antibodies in primary biliary cirrhosis: diagnostic and prognostic value. Clin Liver Dis 12 (2):261-276, 2008.
19. P. Muratori, A. Granito, G. Pappas, G. M. Pendino, C. Quarneti, R. Cicola, R. Menichella, S. Ferri, F. Cassani, F. B. Bianchi, M. Lenzi, and L. Muratori. The serological profile of the autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome Am J Gastroenterol. 104 (6): 1420-1425, 2009.
20. P. Obermayer-Straub, C. P. Strassburg, and M. P. Manns. Autoimmune hepatitis. J Hepatol. 32 (1 Suppl):181 -197, 2000.
21. E. I. Rigopoulou, M. Mytilinaiou, O. Romanidou, C. Liaskos, and G. N. Dalekos. Autoimmune hepatitis-specific antibodies against soluble liver antigen and liver cytosol type 1 in patients with chronic viral hepatitis. J Autoimmune.Dis 4:2, 2007.
22. D. Vergani, F. Alvarez, F. B. Bianchi, E. L. Cancado, I. R. Mackay, M. P. Manns, M. Nishioka, and E. Penner. Liver autoimmune serology: a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group J Hepatol. 41 (4):677-683, 2004.
23. D. Villalta, N. Bizzaro, Re M. Da, R. Tozzoli, L. Komorowski, and E. Tonutti. Diagnostic accuracy of four different immunological methods for the detection of anti-F-actin autoantibodies in type 1 autoimmune hepatitis and other liver-related disorders. Autoimmunity 41 (1):105-110, 2008.
24. I. Wies, S. Brunner, J. Henninger, J. Herkel, S. Kanzler, K.H., and A. W. Lohse. Identification of target antigen forSLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis. Lancet 355 (9214):1510-1515, 2000.
25. H. J. Worman and J. C. Courvalin. Antinuclear antibodies specific for primary biliary cirrhosis. Autoimmun.Rev 2 (4):211-217, 2003.
26. K. Zachou, E. Rigopoulou, and G. N. Dalekos. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis: important tools in clinical practice and to study pathogenesis of the disease. J Autoimmune.Dis 1 (1):2, 2004.
27. A. Zamanou, A. Tsirogianni, C. Terzoglou, A. Balafas, I. Economidou, and P. Lymberi. Anti-smooth muscle antibodies (ASMAs) and anti-cytoskeleton antibodies (ACTAs) in liver diseases: a comparison of classical indirect immunofluorescence with ELISA. J.Clin Lab Anal. 16 (4):194-201,2002.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 254_IFU_EN_QM113118_2016-04-18_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

258_2

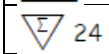
ORG 258 Anti-LC1

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система для определения антител к антигену LC1 предназначена для количественного определения антител класса IgG к цитозольному белку печени типа 1 (LC1) методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антитела к цитозольному белку печени типа 1 (анти-LC1) являются маркерами для дифференциальной диагностики аутоиммунного гепатита (АИГ). Наличие антител к LC1 указывает на АИГ-2. Анти-LC1 – это единственные антитела у одной трети пациентов с АИГ-2.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
258_2	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Лунки пластины микротитратора покрыты рекомбинантным цитозольному белку печени типа 1 (LC1) высокой степени очистки.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

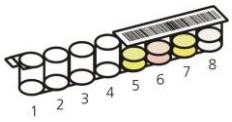
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **LC1** на печатной этикетке: **Anti- LC1**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 12 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

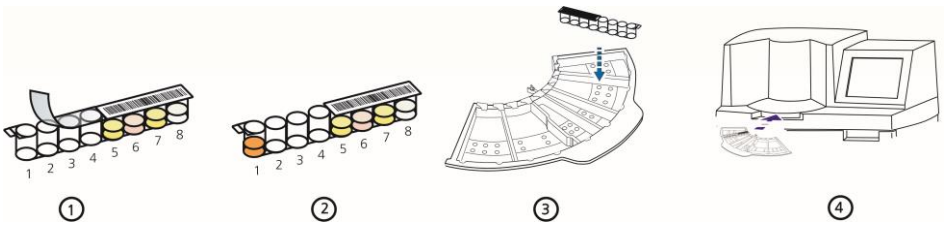
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	100,0	100,0	100
	1:200	58,7	50,0	117
	1:400	28,5	25,0	114
	1:800	13,5	12,5	108
2	1:100	5,3	6,3	84

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	32,2	32,2	100
	1:400	18,3	16,1	114
	1:800	8,4	8,1	104
3	1:100	3,7	4,0	91
	1:200	58,6	58,6	100
	1:400	30,0	29,3	102
	1:800	17,0	14,7	116

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1,8 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,8	8,7
2	23,3	6,8
3	42,7	7,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	20,0	8,2
2	26,2	8,8
3	48,9	11,1

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

	n	LC1 pos		LKM-1 pos	
Заболевание печени	114	22	19.3%	18	15.8%
Первичный билиарный цирроз	35	1	2.9%	1	2.9%
АИГ-1	6	0		0	
АИГ-2	33	19	57.6%	17	51.5%
Вирус гепатита	40	0		0	
Другое аутоиммунное заболевание	232	2	0.9%	0	
Здоровый донор	101	0		0	
Всего:	447				

АИГ-2:		
LC-1 пол. LKM-1 пол.	7 / 33	- 21,2%
LC-1 пол. LKM-1 отр.	**12 / 33**	**36.4%**
LC-1 отр. LKM-1 пол.	10 / 33	30.3%
LC-1 отр. LKM-1 Отр..	4 / 33	12.1%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. N. K. Gatselis, K. Zachou, G. K. Koukoulis, G. N. Dalekos. Autoimmune hepatitis, one disease with many faces: etiopathogenetic, clinic-laboratory and histological characteristics. World J Gastroenterol 21(1): 60-83, 2015.
2. R. Liberal, CR Grant, MS Longhi, G. Mieli-Vergani, D. Vergani. Diagnostic criteria of autoimmune hepatitis. Autoimmun Rev. 13(4-5):435-40, 2014.
3. R. Liberal, G. Mieli-Vergani, D. Vergani. Clinical significance of autoantibodies in autoimmune hepatitis. Journal of Autoimmunity 46:17-24, 2013.
4. K. Zachou, P.Muratori, G. K. Koukoulis, A. Granite, N. Gatselis, A. Fabbri, G. N. Dalekos, L. Muratori. Review article: autoimmune hepatitis - current management and challenges. Aliment Pharmacol Ther 38:887-913, 2013.
5. C. Hu, C. Deng, G. Song, W. Zhang, S. Zhang, X. Li, P. Li, F. Zhang, Y. Li. Prevalence of autoimmune liver disease related autoantibodies in Chinese patients with primary biliary cirrhosis. Dig Dis Sei. 2011 Nov;56 (11):3357-63.
6. A. Makol, K. D. Watt, V. R. Chowdhary. Autoimmune hepatitis: a review of current diagnosis and treatment. Hepatitis Research and Treatment, Volume 2011, ID 390913, 2011.
7. C. J. Hu, F. C. Zhang, Y. Z. Li, and X. Zhang. Primary biliary cirrhosis: what do autoantibodies tell us? World J. Gastroenterol. 16 (29):3616-3629, 2010.
8. D. P. Bogdanos, G. Mieli-Vergani, D. Vergani. Autoantibodies and their antigens in autoimmune hepatitis. Semin Liver Dis 29:241-253, 2009.
9. G. Maggiore, S. Riva, and M. Sciveres. Autoimmune diseases of the liver and biliary tract and overlap syndromes in childhood. Minerva Gastroenterol. Dietol. 55 (1):53-70, 2009.
10. P. Muratori, A. Granite, G. Pappas, G. M. Pendino, C. Quarneti, R. Cicola, R. Menichella, S. Ferri, F.Cassani, F. B. Bianchi, M. Lenzi, and L. Muratori. The serological profile of the autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome. Am. J. Gastroenterol. 104 (6):1420-1425, 2009.

II P. Invernizzi, I. R. Mackay. Autoimmune liver serology: current diagnostic and clinical challenges.

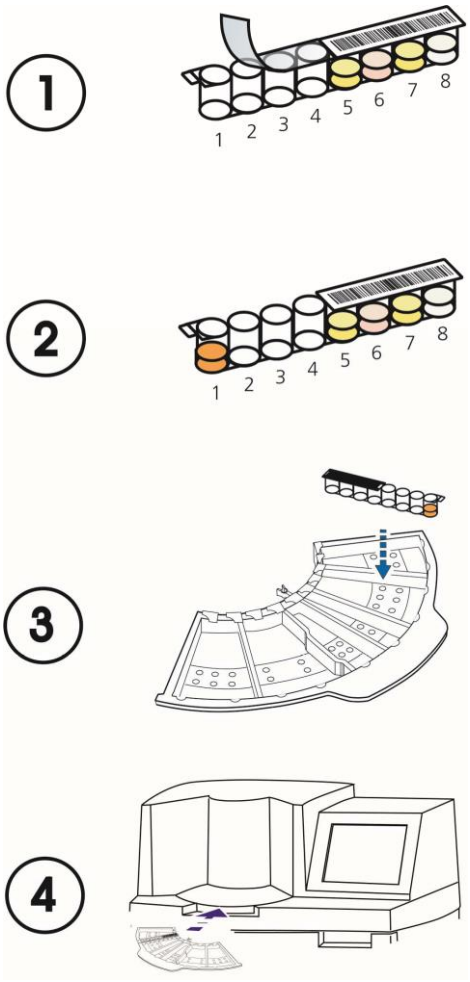
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

World J Gastroenterol 14(21): 3374-3387, 2008.
12. E. I. Rigopoulou, M. Mytilinaiou, O. Romanidou, C. Liaskos, and G. N. Dalekos. Autoimmune hepatitis-specific antibodies against soluble liver antigen and liver cytosol type 1 in patients with chronic viral hepatitis. J. Autoimmune. Dis 4:2, 2007.
13. M. P. Manns and A. Vogel. Autoimmune hepatitis, from mechanisms to therapy. Hepatology 43 (2 Suppl 1): S132-S144, 2006.
14. L. Muratori, E. Sztul, P. Muratori, Y. Gao, A. Ripalti, C. Ponti, M. Lenzi, M. P. Landini, F.B. Bianchi. Distinct epitopes on formiminotransferase cyclodeaminase induce autoimmune livercytosol antibody type 1. Hepatology 34: 494-501,2001.
15. P. Obermayer-Straub, C. P. Strassburg, and M. P. Manns. Autoimmune hepatitis. J. Hepatol. 32 (1 Suppl):181 -197, 2000.
16. P. Lapierre, O. Hajoui, J. C. Homberg, F. Alvarez. Formiminotransferase cyclodeaminase is an organ-speci/Oc autoantigen recognized by sera of patients with autoimmune hepatitis. Gastroenterology 116: 643-649, 1999.
17. M. Lenzi, P. Manotti, L. Muratori, M. Cataleta, G. Ballardini, F. Cassani, and F. B. Bianchi. Liver cytosolic 1 antigen-antibody system in type 2 autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection. Gut 36 (5):749-754, 1995.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 258_IFU_EN_QM151532_2015-08-25_1*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

216_4

ORG 216 AMA-M2

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система AMA-M2 предназначена для количественного определения антител к митохондриальному антигену, подтип м2, методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике первичного билиарного цирроза. У пациентов с другими аутоиммунными заболеваниями появление антител к митохондриальному антигену может быть связано с развитием или ассоциацией первичного билиарного цирроза. Оценка результата анализа всегда должна учитывать все результаты клинической и лабораторной диагностики.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
216_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Митохондриальный антиген, подтип M2 (PDC-E2, BCOADC-E2, OGDC-E2), связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

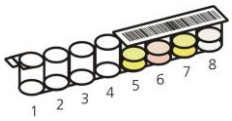
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **AMA-M2** на печатной этикетке: **AMA-M2**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

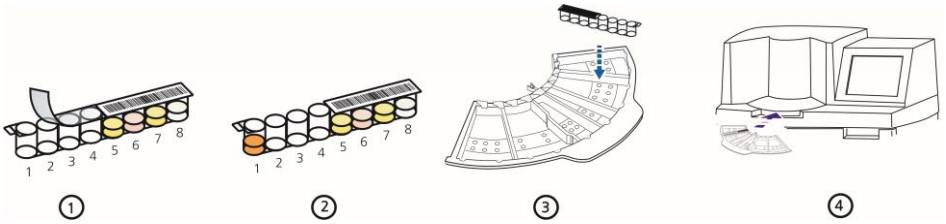
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международному эталонному препарату 67/183 для митохондриального антигена.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 МЕ/мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 МЕ/мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 МЕ/мл
Повышенный результат:	≥ 10 МЕ/мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		МЕ/мл	МЕ/мл	(%)
ВОЗ	1:100	102,5	100,0	103
	1:200	57,4	50,0	115
	1:400	25,7	25,0	103

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:800	12,6	12,5	101
	1:1600	6,7	6,3	107
	1:3200	3,7	3,1	118
1	1:100	49,2	49,2	100
	1:200	21,4	24,6	87
	1:400	10,2	12,3	83
	1:800	6,4	6,2	104

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 МЕ/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	19,6	4,6
2	41,5	6,4
3	118,0	6,1

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	20,2	6,5
2	44,6	9,6
3	122,8	69

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Первичный билиарный цирроз	143	139	97,2
Ревматоидный артрит	60	1	1,7
Нормальная человеческая сыворотка	267	17	6,4

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 216	Пол.	139	18	
AMA-M2	Отр.	4	309	
		143	327	470

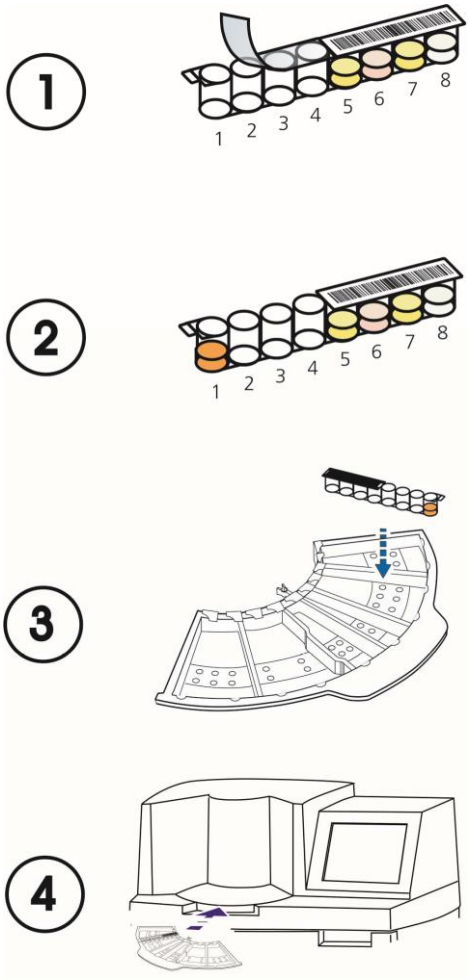
Чувствительность:	97.2 %
Специфичность:	94.5 %
Общая согласованность:	95.3 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Berg, P.A. and Klein, R. Diagnose der primär-biliären Zirrhose. IVD Nachrichten 1990; 1/1: 6 -7.
2. Berg, P.A. and Klein, R. Heterogeneity of anti-mitochondrial antibodies. Sem. Liver Dis. 1989; 9: 103 -116.
3. Berg, P.A. and Klein, R. Immunology of primary biliary cirrhosis. Ba I lie re's Cl in.Gastroenterol. 1987; 1: 675 - 706.
4. Baum, H. and Palmer, C. The PBC specific antigen. Mol. Aspects Med. 1985; 8: 201 - 234.
5. Fussey, S.P.M., Guest, J.R., James, O.F W. et al. Identification and analysis of the major M2 autoantigens in primary biliary cirrhosis. PNAS, USA 1988; 85: 8654 – 8658

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

218_4

ORG 218 Anti-PR3

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-PR3 предназначена для количественного определения антител к протеиназе 3 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антинейтрофильные цитоплазматические антитела (АНЦА) являются диагностическими маркерами АНЦА-ассоциированных васкулититов. Антитела к протеиназе 3 характеризует гранулематоз с ангиопатией (GPA, ранее: Гранулематоз Вегенера). Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике васкулита в сочетании с другими результатами лабораторных и клинических исследований.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
218_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Протеиназа 3 высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

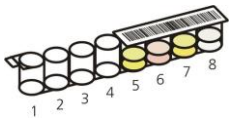
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **PR3** на печатной этикетке: **PR3**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

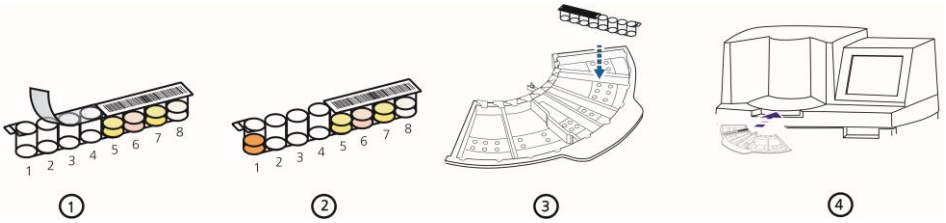
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 5 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 5 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 5 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	85,7	85,7	100
	1:200	40,1	42,9	94
	1:400	22,9	21,4	107
	1:800	10,2	10,7	95
2	1:100	70,9	70,9	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	33,6	35,5	95
	1:400	18,5	17,7	104
	1:800	8,2	8,9	93
3	1:100	95,9	95,9	100
	1:200	45,6	48,0	95
	1:400	21,9	24,0	91
	1:800	13,0	12,0	108

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	8,8	7,5
2	33,8	4,4
3	73,9	3,6

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	7,2	4,3
2	25,8	6,2
3	77,9	32

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Граннулематоз Вегенера (цитоплазматические антинейтрофильные цитоплазматические аутоантитела, пол.)	61	51	83,6
Васкулит (перинуклеарные антинейтрофильные цитоплазматические аутоантитела, пол.)	20	0	0,0
Воспалительный/не воспалительный процесс	150	3	2,0
Нормальная человеческая сыворотка	80	0	0,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 218	Пол.	51	3	
Anti-PR3	Отр.	10	247	
		61	250	311

Чувствительность:	83.6%
Специфичность:	98.8 %
Общая согласованность:	95.8 %

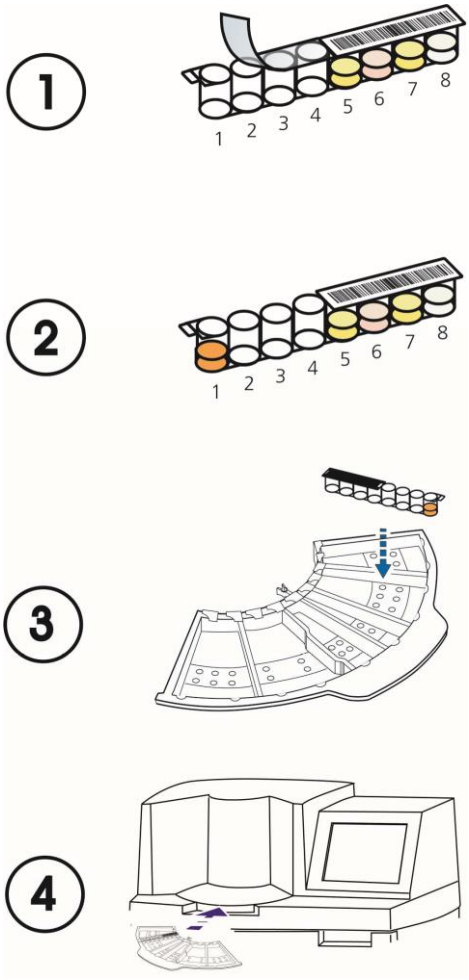
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Jennette, J. C. and Falk, R.J . Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies and Associated Diseases: a Review. Am. J. Kidney Dis. 1990, Vol. XV, No. 6: 517 - 529.
2. Gross, W. L. et al. Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibody-Associated Diseases: A Rheumatologist's Perspective. Am. J. Kidney Dis. 1991, Vol. XVIII, No. 2: 175 -179.
3. Wieslander, J. How are Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies Detected ? Am. J. Kidney Dis. 1991, Vol. XVIII, No. 2:154- 158.
4. Lesavre, P. Antineutrophil cytoplasmic antibodies antigen specificity. Am. J. Kidney Dis. 1991,Vol. XVIII,No. 2: 159- 163.
5. Hagen, E. C. et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: a review of the antigens involved, the assays, and the clinical and possible pathogenic consequences. Blood 1993, Vol.81: 1996 - 2000.
6. Gross, W .L. et al. I mmunodiagnostische und immunopathogenetische Bedeutung von Anti-Neutrophilen- Cytoplasma-Antikörpern. Deutsche Medizinische Wochenschrift 1993, Vol. 118: 191 -199.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 218_IFU_EN_QM113064_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

250_5

ORG 250 Anti-GBM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-GBM предназначена для количественного определения антител класса IgG к базальной мембране клубочков методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Определение циркулирующих аутоантител к антигенам Гудпасчера в базальной мембране клубочков призвано помочь в диагностике гломерулонефрита с образованием антител к базальной мембране в сочетании с гемофтизом и легочным гемосидерозом (синдром Гудпасчера). Тест должен использоваться в сочетании со стандартным клиническим обследованием для дифференциальной диагностики аутоиммунного васкулита.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
2	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
250_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Базальная мембрана клубочков высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

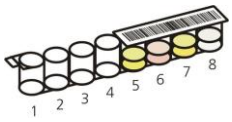
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **GBM** на печатной этикетке: **GBM**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 20 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

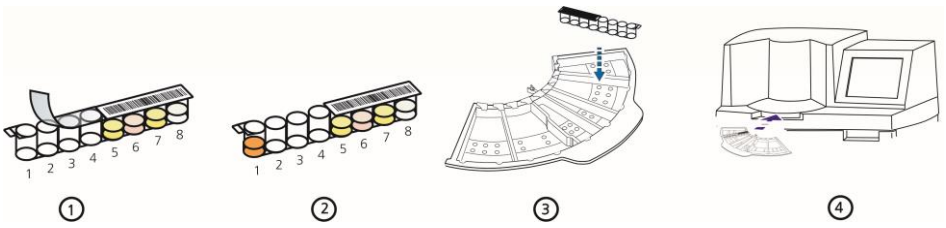
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 20 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 20 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 20 ед./мл
Повышенный результат:	> 20 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	82,4	82,4	100
	1:200	43,8	41,2	106
	1:400	21,3	20,6	103
	1:800	9,6	10,3	93
2	1:100	76,9	76,9	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	39,4	38,5	102
	1:400	18,3	19,2	95
	1:800	10,1	9,6	105
3	1:100	91,3	91,3	100
	1:200	44,8	45,7	98
	1:400	23,1	22,8	101
	1:800	10,6	11,4	93

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	24,1	1,8
2	47,4	2,9
3	163,3	1,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	24,4	4,1
2	47,2	2,2
3	167,1	47

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Синдром Гудпасчера	20	20	100,0
Болезнь соединительной ткани	20	1	5,0
Аутоиммунный васкулит	20	0	0,0
Нормальная человеческая сыворотка	100	0	0,0

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 250	Пол.	20	1	
Anti-GBM	Отр.	0	139	
		20	140	160

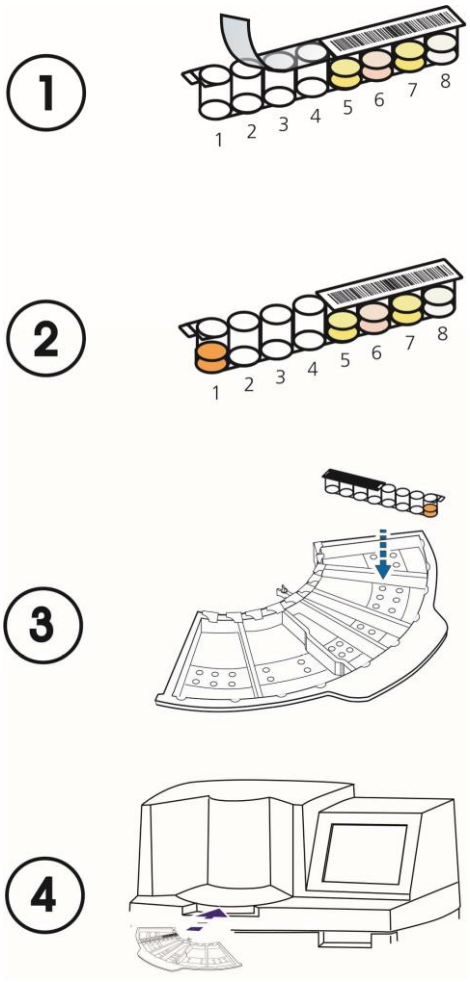
Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	99.3%
Общая согласованность:	99.4%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Bolton, W.K. Goodpasture's syndrome. Kidney I nt., Vol. 50, 1753-1766, 1996
2. Daly, C., Conlon, P. J., Medwar, W., Walshe, J. J. Characteristics and outcome of anti-glomerular basement membrane disease: a single centre experience. Ren. Fail., Vol. 18, 105-112, 1996
3. Good pasture, E. W. The significance of certain pulmonary lesions to the etiology of influenza. Am. J. Med. Sei., Vol.158, 864-870, 1919
4. Hellmark, T., Segelmark, M., Bygren, P., Wieslander, J. Glomerular basement membrane autoantibodies, in: Peter, J. B., Shoenfeld, Y. (Hrsg.), Autoantibodies, S. 291-298, 1996
5. Hudson, B.G., Reeders, S. T., Tryggvason, K. Type IV collagen: structure, gene organization, and role in human
diseases. J. Biol. Chem., Vol. 268, 26033-26036, 1993
6. Hudson, B. G., Wieslander, J., Wisdom, B. J., Noelken, M. E. Goodpasture syndrome: Molecular architecture
and function of basement membrane antigen. Lab. Invest., Vol. 61,256-269, 1989
7. Kalluri, R., Gattone, V. H., Noelken, M .E., Hudson, B. G. The alpha-3 chain of type IV collagen induces autoimmune Goodpasture syndrome. PNAS, Vol. 91,6201-6205, 1994
8. Kalluri, R., Melendez, E., Rumpf, K. W., Sattler, K., et al. Specificity of circulating and tissue bound autoantibodies in Good pasture syndrome Proc. Assoc. Am. Physicians, Vol. 108, 134-139, 1996
9. Saxena, R., Sturfelt, G., Hived, O., Wieslander, J. Significance of anti-entactin antibodies in patients with systemic lupus erythematosus and related disorders. Ann. Rheum. Dis., Vol. 53, 659-665, 1994
10. Wieslander, J., Bygren, P., Heinegard, D. Isolation of the specific glomerular basement membrane antigen involved in Goodpasture syndrome. Proc. Natl. Acad. Sei. USA, Vol. 81, 1544-1548, 1984a
11. Wieslander, J., Barr, J.F., Butkowski, R. J., Edwards, S. J. et al. Goodpasture antigen of the glomerular basement membrane: localization to noncollagenous regions of type IV collagen. PNAS, Vol. 81, 3838-3842, 1984b
12. Schultz H: From infection to autoimmunity: a new model for induction of ANCA against the bactericidal/permeability increasing protein (BPI). Autoimmun.Rev 2007, 6:223-227

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

318_4

ORG 318 Anti-PR3 hs

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-PR3 hs предназначена для количественного определения антител к протеиназе 3 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антинейтрофильные цитоплазматические антитела (АНЦА) являются диагностическими маркерами АНЦА-ассоциированных васкулититов. Антитела к протеиназе 3 характеризует гранулематоз с ангиопатией (GPA, ранее: Гранулематоз Вегенера). Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике васкулита в сочетании с другими результатами лабораторных и клинических исследований.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
2	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
318_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Протеиназа 3 высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

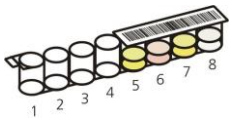
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **PR3 hs** на печатной этикетке: **PR3hs**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

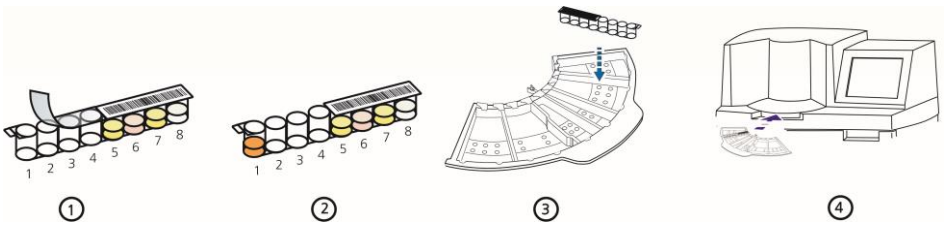
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	153,0	153,0	100
	1:200	79,3	76,5	104
	1:400	35,4	38,3	93
	1:800	17,2	19,1	90
2	1:100	128,5	128,5	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	66,6	64,3	104
	1:400	29,0	32,1	90
	1:800	15,2	16,1	95
3	1:100	76,0	76,0	100
	1:200	36,8	38,0	97
	1:400	19,9	19,0	105
	1:800	10,1	9,5	106

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	14,0	3,3
2	49,7	1,9
3	126,6	2,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	14,2	3,4
2	51,7	6,8
3	129,1	85

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Граннулематоз Вегенера (цитоплазматические антинейтрофильные цитоплазматические аутоантитела, пол.)	51	49	96,1
Воспалительные/невоспалительные заболевания	450	10	2,2
Контроли здоровых людей	80	0	0,0

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 318	Пол.	49	10	
Anti-PR3 hs	Отр.	2	520	
		51	530	581

Чувствительность:	96.1%
Специфичность:	98.1%
Общая согласованность:	97.9 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

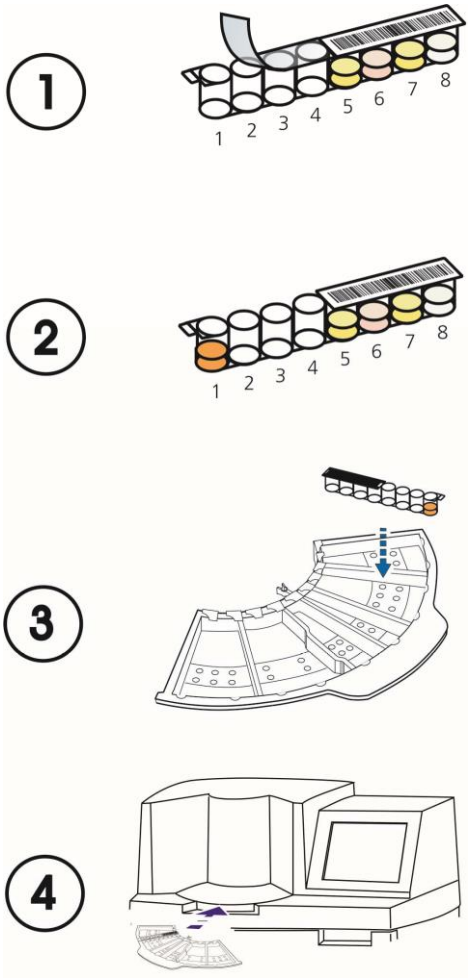
1. Cohen Tervaert J.W., Goldschmeding, R., Elema, J.D., Limburg, P.O. et al Association of autoantibodies to myeloperoxidase with different forms of vasculitis. Arthritis Rheum. 33 (8):1264-1272, 1990
2. Cotch, M.F., Hoffman, G.S., Yerg, D.E., et.al. The epidemiology of Wegener's granulomatosis. Estimates of the five-year period prevalence, annual mortality, and geographic disease distribution from population-based data sources. Arthritis Rheum., Vol 39, 87-92, 1996
3. de Grot, K., Schnabel, A., Gross, W. L. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg-Strauß Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) -1. Diagnostisches Procedere. Z. Rheumatol., Vol 54, 291 - 302, 1995
4. Gross, W.L. Systemic necrotizing vasculitis. Baillieres.Clin.Rheumatol., Vol. 11,259-284, 1997
5. Gross, W.L., Csernok, E., Heimchen, U. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies, autoantigens, and systemic vasculitis. APMIS , Vol. 103, 81-97, 1995
6. Jenette, J. C. Falk, R. J. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and associated diseases. A review. Am. J. Kidney Dis., Vol 15, 517 - 529, 1990
7. Jennette, C.J., Falk, R.J., An drassy, K., Bacon, P.A.et al. Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. Arthritis Rheum. Vol. 37, 187-192, 1994
8. Kallenberg, C.G Vasculitis 1995: new concepts in pathophysiology. Isr.J Med Sei., Vol. 32, 7-12, 1996
9. Kallenberg, C.G. Laboratory findings in the vasculitides. Baillieres Clin Rheumatol., Vol 11,395-421, 1997
10. Schmitt, W. H., Gross, W. L. Antineutrophile zytoplasmatische Antikörper (ANCA). Internist, Vol. 36, 282 - 290, 1995
11. Wiik, A., Stumman, L., Kjeldsen, L., Borregaard, N., et al. The diversity of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA) antigens. Clin. Exp. Immunol., Vol. 101, Suppl. I, 15-17, 1995

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Предыдущая версия: *ORG 318_IFU_EN_QM113129_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

389_3

ORG 389 ANCAscreen hs (high sensitive)

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система ANCAscreen hs (high sensitive) предназначена для качественного определения антител класса IgG к протеиназе 3 и миелопероксидазе методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антинейтрофильные цитоплазматические антитела (АНЦА) к протеиназе 3 и миелопероксидазе являются диагностическими маркерами АНЦА-ассоциированных васкулититов. Протеиназа 3 характеризует гранулематоз с ангиопатией (GPA, ранее: Гранулематоз Вегенера). Миелопероксдаза дифференцирует микроскопический полиангиит и эозинофильный гранулематоз с полиангиитом. Анализ используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике данных заболеваний в сочетании с другими результатами лабораторных и клинических исследований.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
389_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Смесь протиназы 3 и миелопероскидазы высокой степени очистки связываются с микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

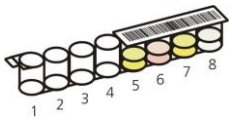
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **ANCAscreen hs** на печатной этикетке: **ANCA-hs**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

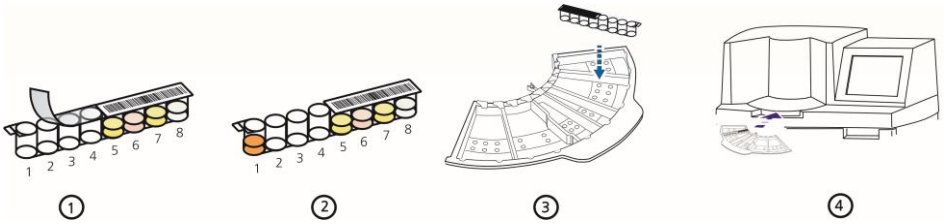
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Для качественных результатов автоматически рассчитывается «значение индекса» путем деления ОП образца на ОП внутреннего контроля порогового значения.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет Индекс 1.0

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	Индекс < 1.0
Положительный результат	Индекс > 1.0

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Настоящий анализ предназначен для качественного определения. Поэтому требования, применяемые к количественным анализам, неприменимы.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение	КВ, %
1 (миелопероксидаза)	1,4	2,4
2 (протеиназа 3)	1,0	3,3
3 (миелопероксидаза)	2,2	2,7
4 (протеиназа 3)	2,3	2,7
5 (миелопероксидаза)	4,4	4,2
6 (протеиназа 3)	4,4	3,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение	КВ, %
1 (миелопероксидаза)	1,1	2,2
2 (протеиназа 3)	0,7	6,5
3 (миелопероксидаза)	2,3	64
4 (протеиназа 3)	1,4	5,7
5 (миелопероксидаза)	4,0	1,5
6 (протеиназа 3)	2,3	6,1

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 389	Пол.	40	2	
ANCAscreen hs	Отр.	2	40	
		42	42	84

Чувствительность:	95.2%
Специфичность:	95.2%
Общая согласованность:	95.2%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

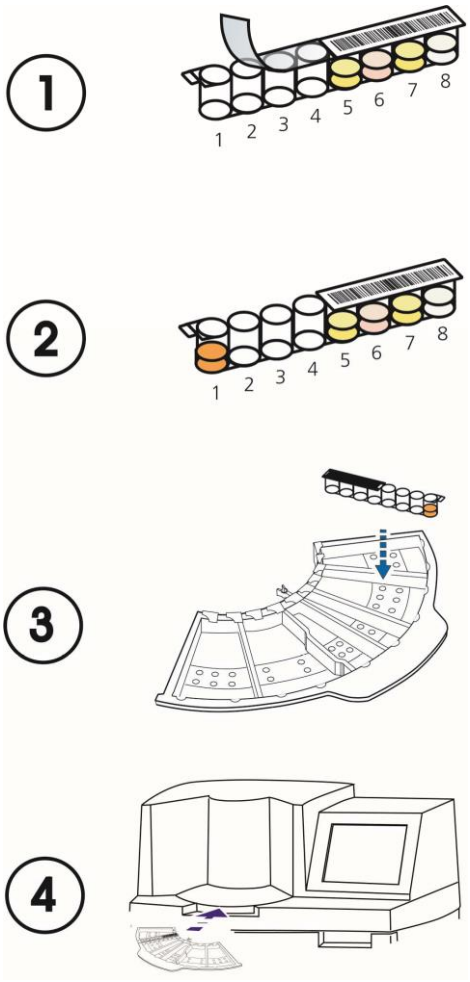
1. Jennette, J. C. and Falk, R. J. Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies and Associated Diseases: A Review. Am. J. Kidney Dis. 1990, Vol. XV, No. 6: 517-529.
2. Gross, W. L. et al. Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibody-Associated Diseases: A Rheumatologist's Perspective. Am. J. Kidney Dis. 1991, Vol. XVIII, No. 2: 175 -179.
3. Wieslander, J. How are Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies Detected? Am. J. Kidney Dis. 1991, Vol. XVIII, No. 2:154- 158.
4. Lesavre, P. Antineutrophil cytoplasmic antibodies antigen specificity. Am. J. Kidney Dis. 1991, Vol. XVIII, No. 2: 159- 163.
5. Hagen, E. C. et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: a review of the antigens involved the

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

assays, and the clinical and possible pathogenic consequences. Blood 1993, Vol. 81: 1996 - 2000.
6. Gross, W. L. et al. I mmunodiagnostische und immunopathogenetische Bedeutung von Anti-Neutrophilen- Cytoplasma-Antikörpern. Dtsch. Med. Wochenschr. 1993, Vol. 118: 191 -199.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 389_IFU_EN_QM130760_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

225_4

ORG 225 Anti-Cathepsin G

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Cathepsin G предназначена для количественного определения антител класса IgG к катепсину G методом иммуноферментного анализа в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Аутоантитела к катепсину G встречаются в основном при заболеваниях соединительной ткани и других схожих воспалительных заболеваниях, например, системной красной волчанке (СКВ), синдроме Шегрена и синдроме Фелти. Определение антител к катепсину G используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике вышеуказанных заболеваний в сочетании с другими результатами лабораторных и клинических исследований.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
225_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Катепсин G высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

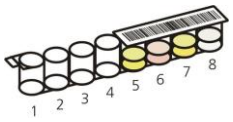
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Cathepsin G** на печатной этикетке: **Cathep**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

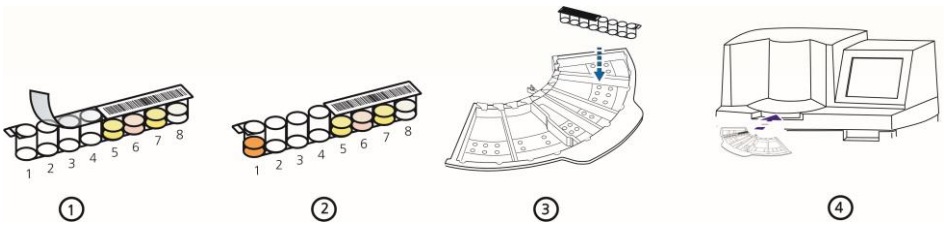
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	89,7	89,7	100
	1:200	50,9	44,9	113
	1:400	27,0	22,4	120
	1:800	12,9	11,2	115
2	1:100	130,5	130,5	100
	1:200	71,6	65,3	110

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	37,5	32,6	115
	1:800	14,9	16,3	91
3	1:100	92,7	92,7	100
	1:200	48,9	46,4	106
	1:400	20,1	23,2	87
	1:800	9,8	11,6	85

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,5	6,0
2	28,6	2,3
3	60,8	5,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,2	6,9
2	26,4	7,6
3	55,7	87

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	ИФА	n	n pos	%
АНЦА-ассоциированный васкулит	Пол.	54	23	42,6
Прочие состояния	Пол.	35	27	77,1
Не АНЦА-ассоциированный васкулит	Пол.	13	8	61,5
Контроли здоровых людей	Отр.	120	0	0,0
Не ревматологические образы	Отр.	72	17	23,6
Не АНЦА-ассоциированный васкулит	Отр.	42	13	31,0

Иммунологический диагноз

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 225	Пол.	58	30	
Anti-Cathepsin G	Отр.	44	204	
		102	234	336

Чувствительность:	56.9 %
Специфичность:	87.2 %
Общая согласованность:	78.0 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

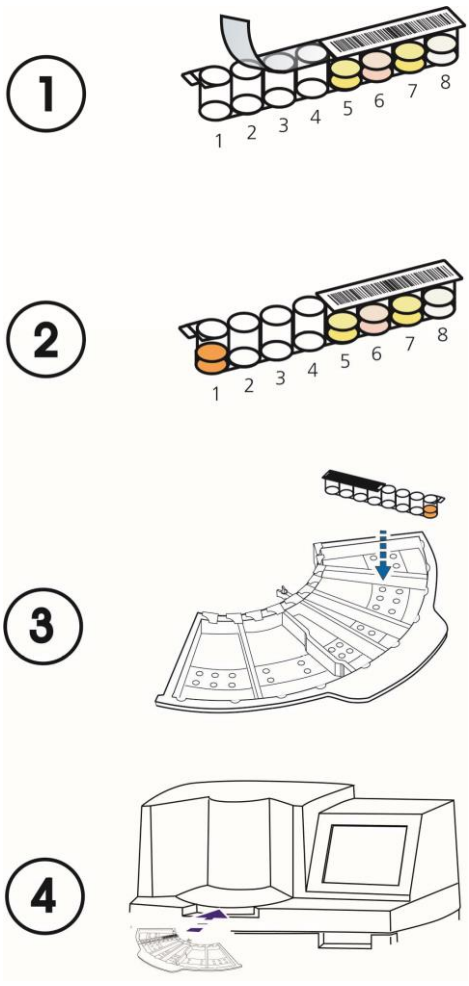
1. Hauschild, S.; Schmitt,W.H.; Csernok, E.; Flesch,B. K.; Rautmann, A.; Gross,W.L. ANCA in systemic vasculitides, collagen vascular diseases, rheumatic disorders and inflammatory bowel diseases. ANCA- associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press,New York, 1993, pp. 245-251.
2. Schmitt, W.H.; Csernok, E.; Flesch, B. K.; Hauschild, S., Gross, W.L. Autoantibodies directed against Lysozyme: A new target Antigen for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, 267 - 272.
3. Skogh, T. and Peen, E. Lactoferrin, Anti-Lactoferrin antibodies and inflammatory disease. ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, pp. 533 -538.
4. Stoffel, M. P.; Csernok, E.; Herzberg, C.; Johnston, T.; Carroll, S.F. and Gross, W. L. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against bacteri-cidal/permeability increasing protein (BPI): a new seromarker for inflammatory bowel disease and associated disorders. Clin. Exp. Immunol. 1996, No. 104, pp. 54 - 59.
5. Zhao, M. H.; Jayne, D. R. W.; Ardiles, L. G.; Culley, F.; Hodson, M.E. and Lockwood. Autoantibodies against bactericidal/permeabilty increasing protein in patients with cystic fibrosis. J. Med. 1996, No. 89, pp. 259 - 265.
6. Wiik, A.; Stumman, L.; Kjeldsen, L.; Borregaard, N.; Ullman, S.; Jacobsen, S. and Halberg, P. The diversity of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA) antigens. Proceedings of the 6th international ANCA workshop, France - July 1995, pp. 15-17.
7. Jenette, J. C. and Falk, R. J. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and associated disease: A review. Am. J. of Kidney Disease 1990, Vol. XV, No. 6, pp. 517 - 529.
8. Schmitt, W. H. and Gross, W.L. Antineutrophil zytoplasmatische Antikörper (ANCA). Internist 1995, No. 36, pp. 282 -290.
9. Gross, W.L. and Rheinhold-Keller, E. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg-Strauss- Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) - 1. Systematik, Pathogenese und Klinik. Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 279- 290.
10. de Grot, K.; Schnabel, A. and Gross, W. L. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Churg- Strauss-Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) - 1. Diagnostisches Procedere. Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 291 -302.
11. H.TalorMV, Stone JH, Stebbing J, Barin J, Rose NR, Burek CL: Antibodies to selected minor target antigens in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Clin.Exp.Immunol. 2007, 150:42-48.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 225_IFU_EN_QM113077_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

226_4

ORG 226 Anti-Lysozyme

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Lysozyme предназначена для количественного определения антител к лизоциму методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Аутоантитела к лизоциму относятся к антинейтрофильным цитоплазматическим антителам (АНЦА). Они встречаются с большей частотой у пациентов, страдающих от ревматоидного васкулита, язвенного колита и первичного склерозирующего холангита. Вместе с другими результатами клинических и лабораторных исследований они способствуют дифференциации АНЦА-ассоциированного васкулита от васкулита, связанного с другими заболеваниями.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
226_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Лизоцим высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

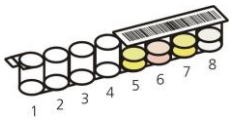
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Cathepsin G** на печатной этикетке: **Cathep**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50x.

SYSTEM FLUID 1x 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 x.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

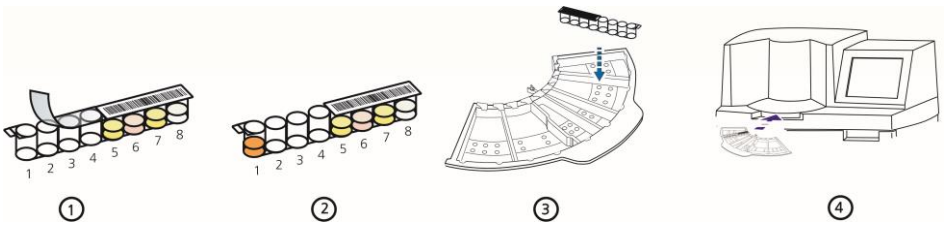
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	71,7	71,7	100
	1:200	35,8	35,9	100
	1:400	18,3	17,9	102
	1:800	9,5	9,0	106
2	1:100	89,9	89,9	100
	1:200	46,2	45,0	103

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	23,8	22,5	106
	1:800	12,9	11,2	115
3	1:100	44,8	44,8	100
	1:200	20,3	22,4	91
	1:400	10,8	11,2	96
	1:800	5,1	5,6	91

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,7	3,7
2	49,3	2,8
3	84,5	4,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	13,0	3,8
2	47,6	5,9
3	88,1	56

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	ИФА	n	n pos	%
АНЦА-ассоциированный васкулит	Пол.	54	2	3,7
Прочие состояния	Пол.	35	6	17,1
Васкулит, вызванный прочими причинами	Пол.	13	3	23,1
Контроли здоровых людей	Отр.	120	0	0,0
Не ревматологические образы	Отр.	72	0	0,0
Васкулит, вызванный прочими причинами	Отр.	42	0	0,0

Иммунологический диагноз

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 226	Пол.	11	0	
Anti-Lysozyme	Отр.	91	234	
		102	234	336

Чувствительность:	10.8 %
Специфичность:	100.0 %
Общая согласованность:	72.9%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

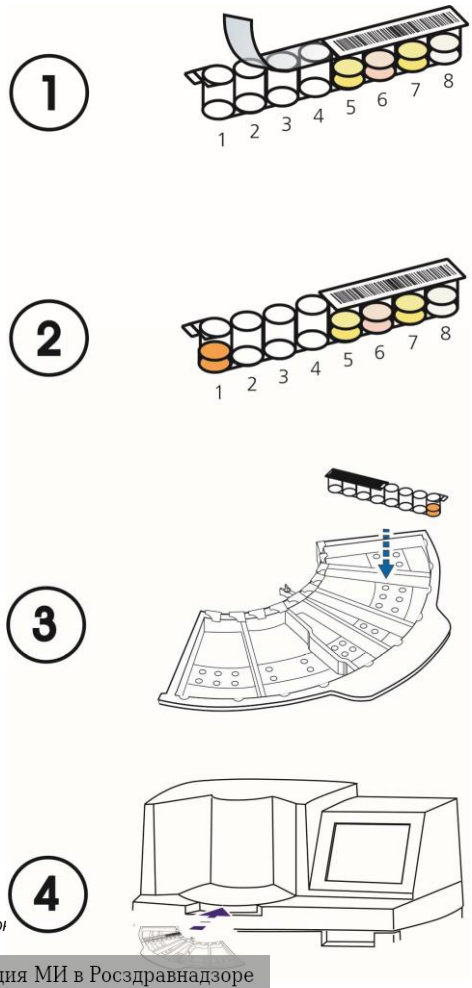
1. Hauschild, S.; Schmitt,W.H.; Csernok, E.; Flesch,B. K.; Rautmann, A.; Gross,W.L. ANCA in systemic vasculitides, collagen vascular diseases, rheumatic disorders and inflammatory bowel diseases. ANCA- associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press,New York, 1993, pp. 245-251.
2. Schmitt, W.H.; Csernok, E.; Flesch, B. K.; Hauschild, S., Gross, W.L. Autoantibodies directed against Lysozyme: A new target Antigen for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, 267 - 272.
3. Skogh, T. and Peen, E. Lactoferrin, Anti-Lactoferrin antibodies and inflammatory disease. ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, pp. 533 -538.
4. Stoffel, M. P.; Csernok, E.; Herzberg, C.; Johnston, T.; Carroll, S.F. and Gross, W. L. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against bacteri-cidal/permeability increasing protein (BPI): a new seromarker for inflammatory bowel disease and associated disorders. Clin. Exp. Immunol. 1996, No. 104, pp. 54 - 59.
5. Zhao, M. H.; Jayne, D. R. W.; Ardiles, L. G.; Culley, F.; Hodson, M.E. and Lockwood.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Autoantibodies against bactericidal/permeabilty increasing protein in patients with cystic fibrosis. J. Med. 1996, No. 89, pp. 259 - 265.
6. Wiik, A.; Stumman, L.; Kjeldsen, L.; Borregaard, N.; Ullman, S.; Jacobsen, S. and Halberg, P. The diversity of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA) antigens. Proceedings of the 6th international ANCA workshop, France - July 1995, pp. 15-17.
7. Jenette, J. C. and Falk, R. J. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and associated disease: A review. Am. J. of Kidney Disease 1990, Vol. XV, No. 6, pp. 517 - 529.
8. Schmitt, W. H. and Gross, W.L. Antineutrophil zytoplasmatische Antikörper (ANCA). Internist 1995, No. 36, pp. 282 -290.
9. Gross, W.L. and Rheinhold-Keller, E. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg-Strauss- Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) - 1. Systematik, Pathogenese und Klinik. Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 279- 290.
10. de Grot, K.; Schnabel, A. and Gross, W. L. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg- Strauss-Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) - 1. Diagnostisches Procedere. Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 291 -302.
11. H.TalorMV, Stone JH, Stebbing J, Barin J, Rose NR, Burek CL: Antibodies to selected minor target antigens in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Clin.Exp.Immunol. 2007, 150:42-48.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 226_IFU_EN_QM113078_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

227_4

ORG 227 Anti-Lactoferrin

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Lactoferrin для количественного определения антител к лактоферрину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Аутоантитела к лактоферрину относятся к антинейтрофильным цитоплазматическим антителам (АНЦА). Они встречаются с большей частотой у пациентов, страдающих от ревматоидного васкулита, язвенного колита и первичного склерозирующего холангита. Вместе с другими результатами клинических и лабораторных исследований они способствуют дифференциации АНЦА-ассоциированного васкулита от васкулита, связанного с другими заболеваниями.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
227_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Лактоферрин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

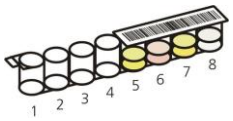
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Lactoferrin** на печатной этикетке: **Lactofer**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

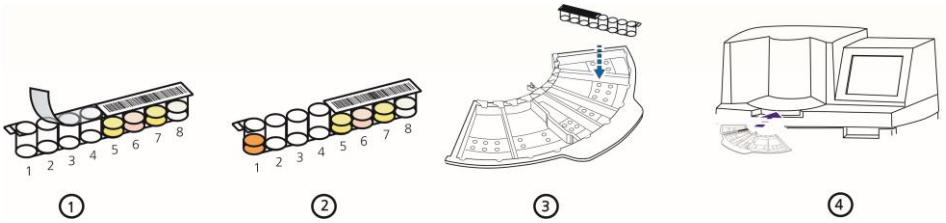
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	92,6	92,6	100
	1:200	44,6	46,3	96
	1:400	24,1	23,2	104
	1:800	11,9	11,6	103
2	1:100	76,1	76,1	100
	1:200	36,9	38,1	97

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	18,5	19,0	97
	1:800	9,7	9,5	102
3	1:100	56,9	56,9	100
	1:200	29,3	28,5	103
	1:400	14,0	14,2	98
	1:800	7,4	7,1	104

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	11,2	4,2
2	22,7	5,8
3	59,9	3,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	11,8	6,3
2	23,0	6,2
3	57,5	80

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	ИФА	n	n pos	%
АНЦА-ассоциированный васкулит	Пол.	54	12	22,2
Прочие состояния	Пол.	35	11	31,4
Васкулит, вызванный прочими причинами	Пол.	13	4	30,8
Контроли здоровых людей	Отр.	120	0	0,0
Не ревматологические образы	Отр.	72	11	15,3
Васкулит, вызванный прочими причинами	Отр.	42	4	9,5

Иммунологический диагноз

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 227	Пол.	27	15	
Anti-Lactoferrin	Отр.	75	219	
		102	234	336

Чувствительность:	26.5 %
Специфичность:	93.6 %
Общая согласованность:	73.2 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

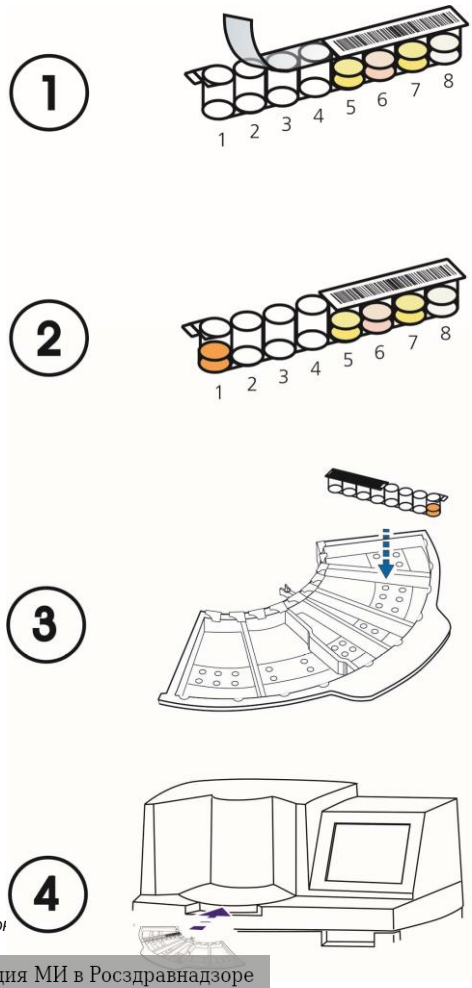
1. Hauschild, S.; Schmitt,W.H.; Csernok, E.; Flesch,B. K.; Rautmann, A.; Gross,W.L. ANCA in systemic vasculitides, collagen vascular diseases, rheumatic disorders and inflammatory bowel diseases. ANCA- associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press,New York, 1993, pp. 245-251.
2. Schmitt, W.H.; Csernok, E.; Flesch, B. K.; Hauschild, S., Gross, W.L. Autoantibodies directed against Lysozyme: A new target Antigen for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, 267 - 272.
3. Skogh, T. and Peen, E. Lactoferrin, Anti-Lactoferrin antibodies and inflammatory disease. ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, pp. 533 -538.
4. Stoffel, M. P.; Csernok, E.; Herzberg, C.; Johnston, T.; Carroll, S.F. and Gross, W. L. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against bacteri-cidal/permeability increasing protein (BPI): a new seromarker for inflammatory bowel disease and associated disorders. Clin. Exp. Immunol. 1996, No. 104, pp. 54 - 59.
5. Zhao, M. H.; Jayne, D. R. W.; Ardiles, L. G.; Culley, F.; Hodson, M.E. and Lockwood.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Autoantibodies against bactericidal/permeabilty increasing protein in patients with cystic fibrosis. J. Med. 1996, No. 89, pp. 259 - 265.
6. Wiik, A.; Stumman, L.; Kjeldsen, L.; Borregaard, N.; Ullman, S.; Jacobsen, S. and Halberg, P. The diversity of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA) antigens. Proceedings of the 6th international ANCA workshop, France - July 1995, pp. 15-17.
7. Jenette, J. C. and Falk, R. J. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and associated disease: A review. Am. J. of Kidney Disease 1990, Vol. XV, No. 6, pp. 517 - 529.
8. Schmitt, W. H. and Gross, W.L. Antineutrophil zytoplasmatische Antikörper (ANCA). Internist 1995, No. 36, pp. 282 -290.
9. Gross, W.L. and Rheinhold-Keller, E. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg-Strauss- Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) - 1. Systematik, Pathogenese und Klinik. Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 279- 290.
10. de Grot, K.; Schnabel, A. and Gross, W. L. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg- Strauss-Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) - 1. Diagnostisches Procedere. Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 291 -302.
11. H.TalorMV, Stone JH, Stebbing J, Barin J, Rose NR, Burek CL: Antibodies to selected minor target antigens in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Clin.Exp.Immunol. 2007, 150:42-48.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 227_IFU_EN_QM113079_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

223_4

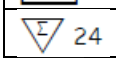
ORG 223 Anti-BPI

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-BPI предназначена для количественного определения антител класса IgG к бактерицидному белку, увеличивающему проницаемость методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Аутоантитела к бактерицидному белку, повышающему проницаемость, относятся к антинейтрофильным цитоплазматическим антителам (АНЦА). Они возникают при множестве заболеваний различной этиологии, например, при муковисцидозе, воспалительных заболеваниях кишечника, реактивном артрите. Вместе с другими результатами клинических и лабораторных исследований они способствуют дифференциации АНЦА-ассоциированного васкулита от васкулита, связанного с другими заболеваниями.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
223_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Белок, увеличивающий проницаемость, высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

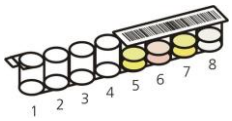
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **BPI** на печатной этикетке: **BPI**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления.

Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

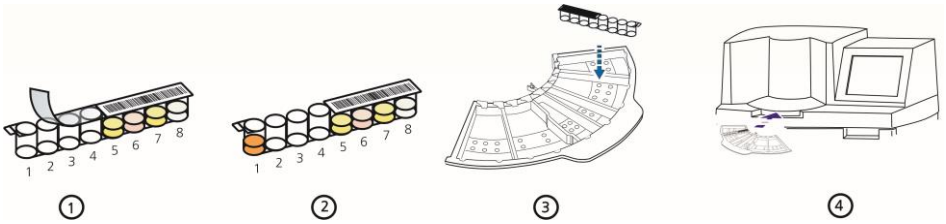
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	81,2	81,2	100
	1:200	40,1	40,6	99
	1:400	20,6	20,3	101
	1:800	10,4	10,2	102
2	1:100	50,3	50,3	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	25,6	25,2	102
	1:400	12,4	12,6	99
	1:800	6,5	6,3	103
3	1:100	35,6	35,6	100
	1:200	17,6	17,8	99
	1:400	9,0	8,9	101
	1:800	4,4	4,5	99

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,8	2,6
2	24,8	2,8
3	50,8	4,5

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	13,0	3,1
2	25,4	5,4
3	49,4	48

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	ИФА	n	n pos	%
АНЦА-ассоциированный васкулит	Пол.	54	12	22,2
Прочие состояния	Пол.	35	15	42,9
Не АНЦА-ассоциированный васкулит	Пол.	13	4	30,8
Контроли здоровых людей	Отр.	120	0	0,0
Не ревматологические образцы	Отр.	72	11	15,3
Не АНЦА-ассоциированный васкулит	Отр.	42	7	16,7

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 223	Пол.	31	18	
Anti-BPI	Отр.	71	216	
		102	234	336

Чувствительность:	30.4 %
Специфичность:	92.3 %
Общая согласованность:	73.5 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

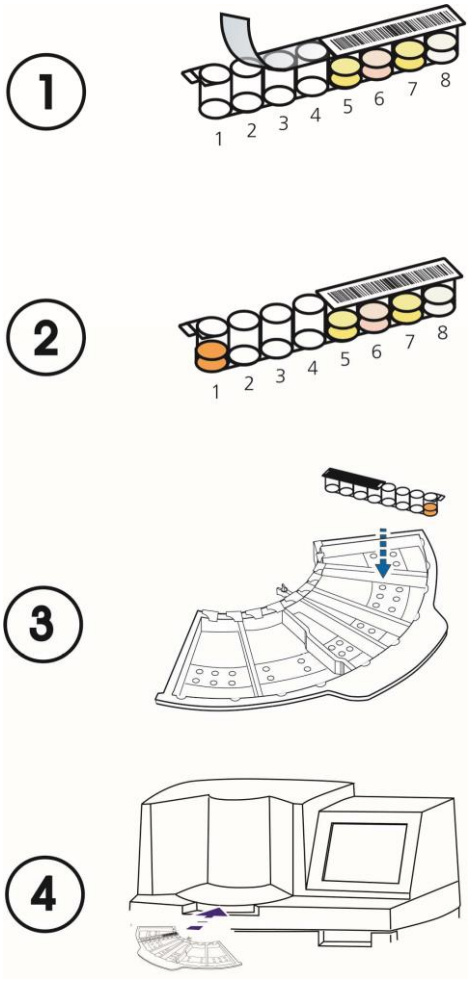
1. Hauschild, S.; Schmitt,W.H.; Csernok, E.; Flesch,B. K.; Rautmann, A.; Gross,W.L. ANCA in systemic vasculitides, collagen vascular diseases, rheumatic disorders and inflammatory bowel diseases. ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press,New York, 1993, pp. 245-251.
2. Schmitt, W.H.; Csernok, E.; Flesch, B. K.; Hauschild, S., Gross, W.L. Autoantibodies directed against Lysozyme: A new target Antigen for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, 267 -272.
3. Skogh, T. and Peen, E. Lactoferrin, Anti-Lactoferrin antibodies and inflammatory disease. ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, pp. 533 - 538.
4. Stoffel, M. P.; Csernok, E.; Herzberg, C.; Johnston, T.; Carroll, S.F. and Gross, W. L. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against bacteri-cidal/permeability increasing protein (BPI): a new seromarker for inflammatory bowel disease and associated disorders. Clin. Exp. Immunol. 1996, No. 104, pp. 54 - 59.
5. Zhao, M. H.; Jayne, D. R. W.; Ardiles, L. G.; Culley, F.; Hodson, M.E. and Lockwood. Autoantibodies against bactericidal/permeabilty increasing protein in patients with cystic fibrosis. J. Med. 1996, No. 89, pp. 259 - 265.
6. Wiik, A.; Stumman, L.; Kjeldsen, L.; Borregaard, N.; Ullman, S.; Jacobsen, S. and Halberg, P. The diversity of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA) antigens. Proceedings of the 6th international ANCA workshop, France - July 1995, pp. 15-17.
7. Jenette, J. C. and Falk, R. J. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and associated disease: A review. Am. J. of Kidney Disease 1990, Vol. XV, No. 6, pp. 517 - 529.
8. Schmitt, W. H. and Gross, W.L. Antineutrophil zytoplasmatische Antikörper (ANCA). Internist 1995, No. 36, pp. 282 - 290.
9. Gross, W.L. and Rheinhold-Keller, E. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg-Strauss- Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) - 1. Systematik, Pathogenese und Klinik. Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 279-290.
10. de Grot, K.; Schnabel, A. and Gross, W. L. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg- Strauss-Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) - 1. Diagnostisches Procedere. Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 291 -302.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

11. Schultz H, Weiss JP: The bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) in infection and inflammatory disease. Clin Chim Acta 2007, 384:12-23.
12.Schultz H: From infection to autoimmunity: a new model for induction of ANCA against the bactericidal/permeability increasing protein (BPI). Autoimmun.Rev 2007, 6:223-227.
13.TalorMV, Stone JH, Stebbing J, Barin J, Rose NR, Burek CL: Antibodies to selected minor target antigens in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Clin.Exp.lmmunol. 2007, 150:42-48.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 223_IFU_EN_QM113075_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

219_4

ORG 219 Anti-MPO

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-MPO предназначена для количественного определения антител класса IgG к миелопероксидазе методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антинейтрофильные цитоплазматические антитела (АНЦА) являются диагностическими маркерами АНЦА-ассоциированных васкулититов. Антитела к миелопероксидазе дифференцирует микроскопический полиангиит и эозинофильный гранулематоз с полиангиитом в сочетании с другими результатами лабораторных и клинических исследований.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
219_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Антитела к миелоопероксидазе высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

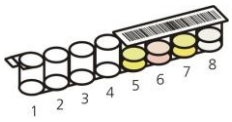
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **MPO** на печатной этикетке: **Anti-MPO**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

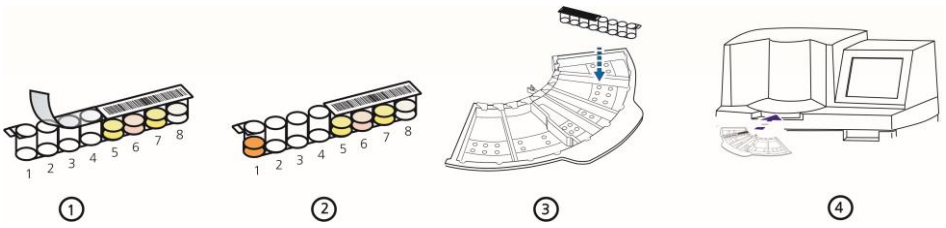
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 5 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 5 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 5 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	72,1	72,1	100
	1:200	38,9	36,1	108
	1:400	18,8	18,0	104
	1:800	10,2	9,0	113
2	1:100	67,9	67,9	100
	1:200	33,2	34,0	98

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	14,8	17,0	87
	1:800	6,7	8,5	79
3	1:100	56,7	56,7	100
	1:200	31,2	28,4	110
	1:400	15,1	14,2	107
	1:800	7,9	7,1	111

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	10,1	3,9
2	31,3	8,2
3	66,8	7,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	10,8	5,2
2	37,8	9,6
3	80,8	94

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Серповидный гломерулонефрит	55	53	96,4
Граннулематоз Вегенера (цитоплазматические антинейтрофильные цитоплазматические аутоантитела, пол.)	20	1	5,0
Болезнь почек, не связанная с АНЦА	10	1	10,0
Нормальная человеческая сыворотка	120	3	2,5

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 219	Пол.	53	5	
Anti-MPO	Отр.	2	145	
		55	150	205

Чувствительность:	96.4 %
Специфичность:	96.7 %
Общая согласованность:	96.6 %

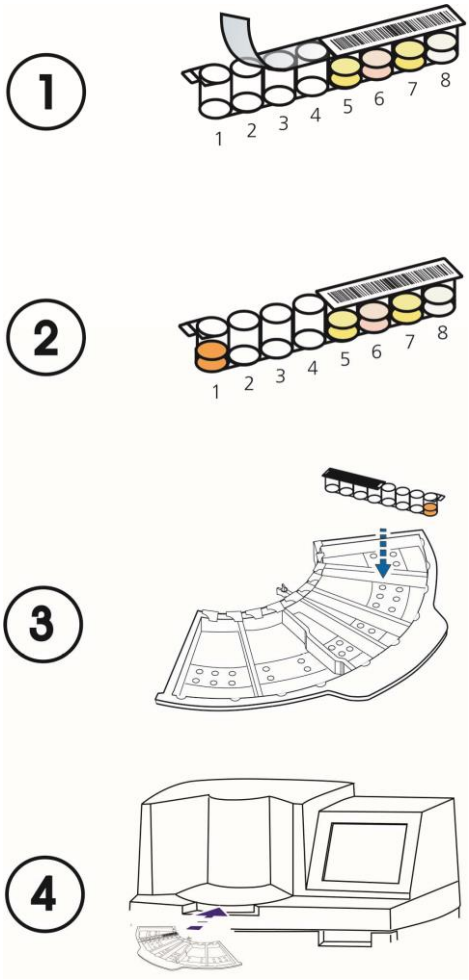
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Jennette, J. C. and Falk, R.J . Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies and Associated Diseases: a Review. Am. J. Kidney Dis. 1990, Vol. XV, No. 6: 517 - 529.
2. Gross, W. L. et al. Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibody-Associated Diseases: A Rheumatologist's Perspective. Am. J. Kidney Dis. 1991, Vol. XVIII, No. 2: 175 -179.
3. Wieslander, J. How are Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies Detected ? Am. J. Kidney Dis. 1991, Vol. XVIII, No. 2:154- 158.
4. Lesavre, P. Antineutrophil cytoplasmic antibodies antigen specificity. Am. J. Kidney Dis. 1991,Vol. XVIII,No. 2: 159- 163.
5. Hagen, E. C. et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: a review of the antigens involved, the assays, and the clinical and possible pathogenic consequences. Blood 1993, Vol.81: 1996 - 2000.
6. Gross, W .L. et al. I mmunodiagnostische und immunopathogenetische Bedeutung von Anti-Neutrophilen- Cytoplasma-Antikörpern. Deutsche Medizinische Wochenschrift 1993, Vol. 118: 191 -199.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 219_IFU_EN_QM113065_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

215A_4

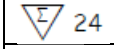
ORG 215A Anti-Cardiolipin IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Cardiolipin IgA предназначена для количественного определения антител класса IgA к кардиолипину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
215A_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Кадиолипин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками, насыщенными бета-2-гликопротеином I.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

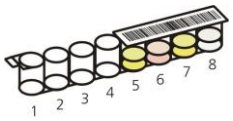
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Cardiolipin IgA** на печатной этикетке: **CLP-lgA**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Руководстве по эксплуатации прибора.

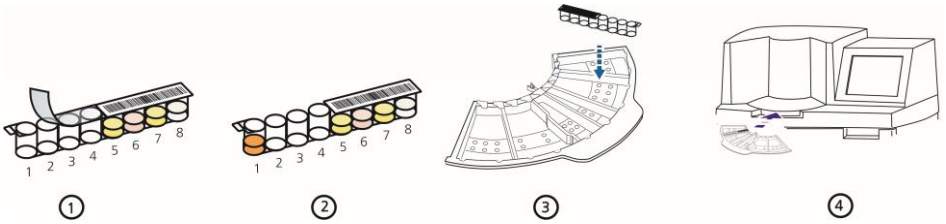
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и специфическим эталонным материалом IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-120 АФА ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 АФА ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 АФА ед./мл.
Повышенный результат:	≥ 10 АФА ед./мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		АФА ед./мл.	АФА ед./мл.	(%)
1	1:100	98,4	98,4	100
	1:200	47,5	49,2	97
	1:400	26,0	24,6	106
	1:800	12,8	12,3	104
2	1:100	88,2	88,2	100
	1:200	45,1	44,1	102
	1:400	23,6	22,1	107
	1:800	11,5	11,0	104
3	1:100	115,1	115,1	100
	1:200	58,9	57,6	102
	1:400	27,6	28,8	96
	1:800	15,0	14,4	104

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 АФА ед./мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, АФА ед./мл.	КВ, %
1	17,2	3,8
2	39,2	3,4
3	81,7	2,5

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, АФА ед./мл.	КВ, %
1	16,9	4,7
2	37,2	6,1
3	86,3	75

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Первичный АФС	8	4	50,0
Вторичный АФС	65	14	21,5
Нормальная человеческая сыворотка	150	2	1,3

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 215A	Пол.	18	2	
Anti-Cardiolipin IgA	Отр.	55	148	
		73	150	223

Чувствительность:	24.7 %
Специфичность:	98.7 %
Общая согласованность:	74.4 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

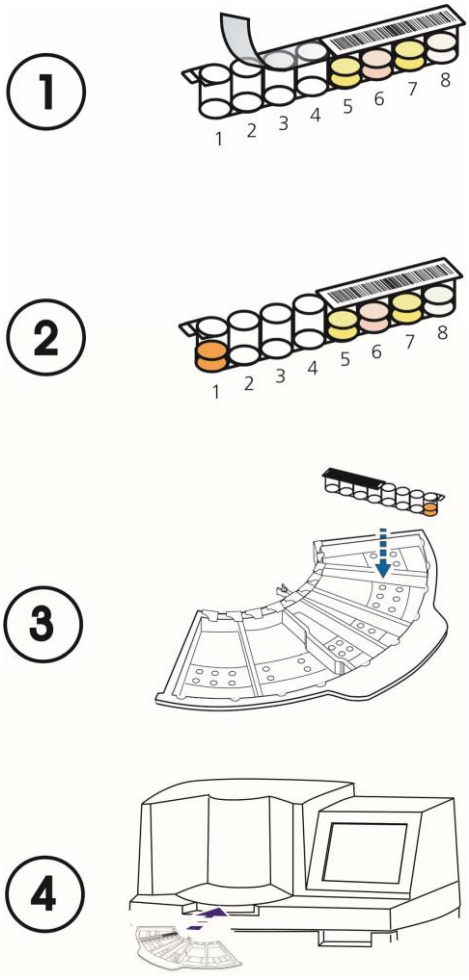
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2)Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

215G_4

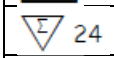
ORG 215G Anti-Cardiolipin IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Cardiolipin IgG предназначена для количественного определения аутоантител класса IgG к кардиолипину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
215G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU м	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Кадиолипин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками, насыщенными бета-2-гликопротеином I.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

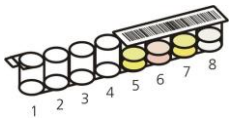
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Cardiolipin IgG** на печатной этикетке: **CLP- lgG**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Руководстве по эксплуатации прибора.

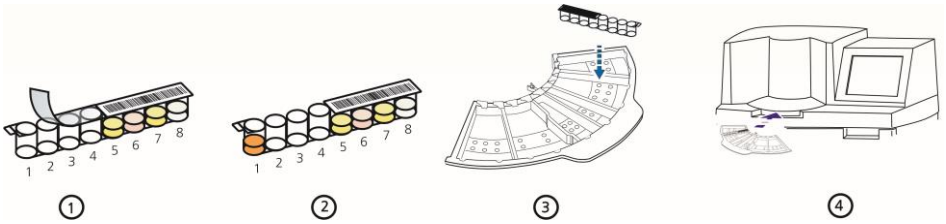
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и специфическим эталонным материалом IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG)

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-120 GPL ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 GPL ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 GPL ед./мл.
Повышенный результат:	≥ 10 GPL ед./мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		GPL ед./мл.	GPL ед./мл.	(%)
1	1:100	83,2	83,2	100
	1:200	45,2	41,6	109
	1:400	22,3	20,8	107
	1:800	11,5	10,4	111
2	1:100	75,4	75,4	100
	1:200	39,1	37,7	104
	1:400	19,5	18,9	103
	1:800	8,6	9,4	91
3	1:100	110,3	110,3	100
	1:200	54,2	55,2	98
	1:400	27,1	27,6	98
	1:800	15,2	13,8	110

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 GPL ед./мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, GPL ед./мл.	КВ, %
1	71,0	2,4
2	33,4	5,5
3	16,2	4,6

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, GPL ед./мл.	КВ, %
1	64,8	8,6
2	32,6	5,9
3	16,5	6,1

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Первичный АФС	8	6	75,0
Вторичный АФС	65	57	87,7
Нормальная человеческая сыворотка	150	6	4,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 215G	Пол.	63	6	
Anti-Cardiolipin IgG	Отр.	10	144	
		73	150	223

Чувствительность:	86.3 %
Специфичность:	96.0 %
Общая согласованность:	92.8%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

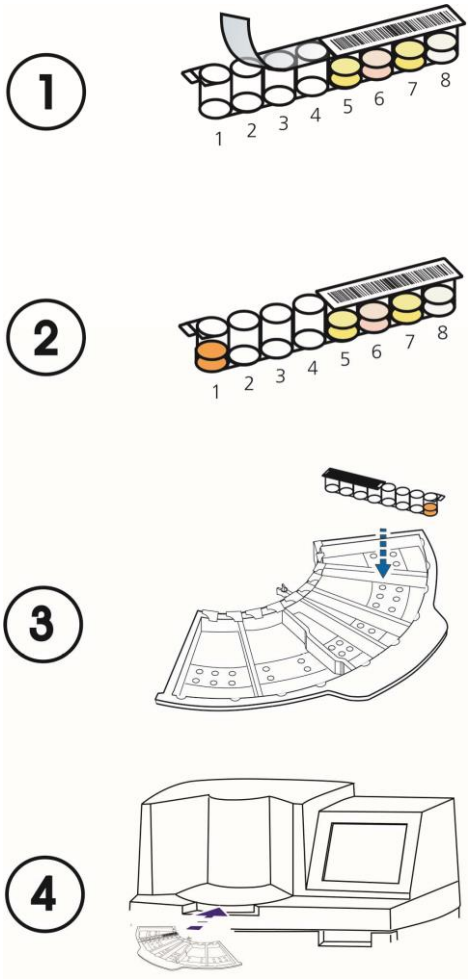
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2)Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

215M_4

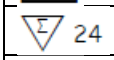
ORG 215M Anti-Cardiolipin IgM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Cardiolipin IgM предназначена для количественного определения антител класса IgM к кардиолипину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) — это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
215M_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU м	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Кадиолипин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками, насыщенными бета-2-гликопротеином I.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

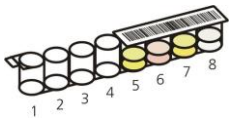
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Cardiolipin IgM** на печатной этикетке: **CLP-lgM**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Руководстве по эксплуатации прибора.

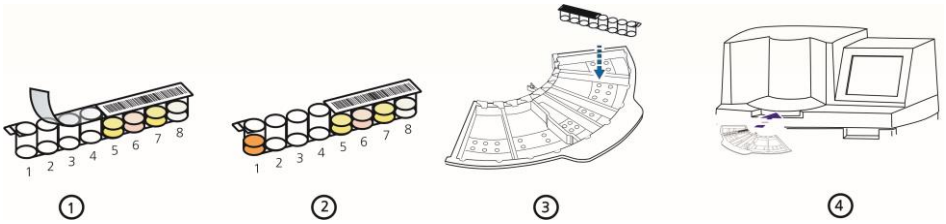
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и специфическим эталонным материалом EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-80 MPL ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 7 MPL ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 7 MPL ед./мл.
Повышенный результат:	≥ 7 MPL ед./мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Образец	Разведение	Полученное	Ожидаемое	Соотно
		MPL ед./мл.	MPL ед./мл.	(%)
1	1:100	74,2	74,2	100
	1:200	40,2	37,1	108
	1:400	18,1	18,6	98
	1:800	8,9	9,3	96
2	1:100	70,5	70,5	100
	1:200	32,1	35,3	91
	1:400	16,2	17,6	92
	1:800	8,5	8,8	96
3	1:100	68,4	68,4	100
	1:200	23,5	34,2	69
	1:400	12,1	17,1	71
	1:800	5,4	8,6	63

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 MPL ед./мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, MPL ед./мл.	КВ, %
1	12,5	3,7
2	23,2	2,9
3	42,8	2,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, MPL ед./мл.	КВ, %
1	12,5	5,7
2	23,0	3,6
3	43,2	37

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Первичный АФС	8	4	50,0
Вторичный АФС	65	26	40,0
Нормальная человеческая сыворотка	150	3	2,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 215M	Пол.	30	3	
Anti-Cardiolipin IgM	Отр.	43	147	
		73	150	223

Чувствительность:	41.1 %
Специфичность:	98.0 %
Общая согласованность:	79.4 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

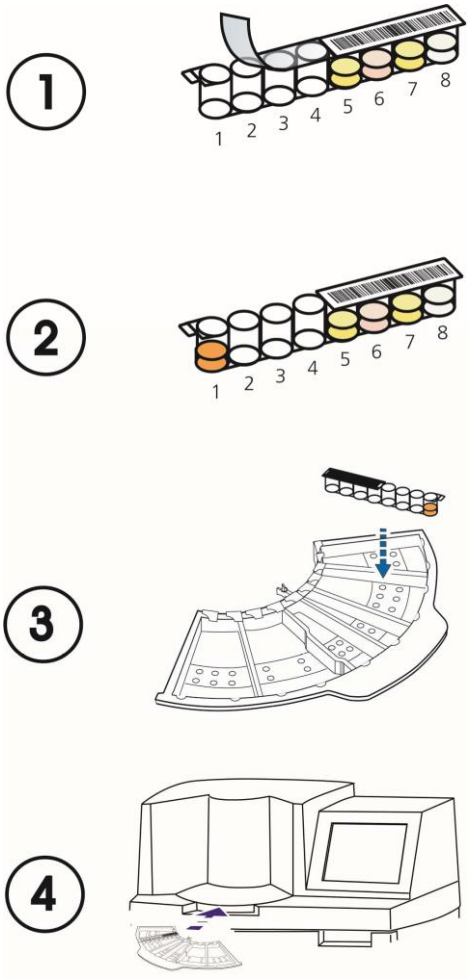
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2)Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

215S_4

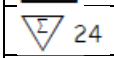
ORG 215S Anti-Cardiolipin Screen

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Cardiolipin Screen предназначена для количественного определения антител класса IgG, IgA и IgM к кардиолипину методом иммуноферментного анализа в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) — это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного не вынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
215S_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU М	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Кадиолипин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками, насыщенными бета-2-гликопротеином I.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

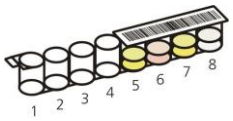
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP , антитела класса IgM, IgA и IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Cardiolipin Screen** на печатной этикетке: **CLP-Scr**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Руководстве по эксплуатации прибора.

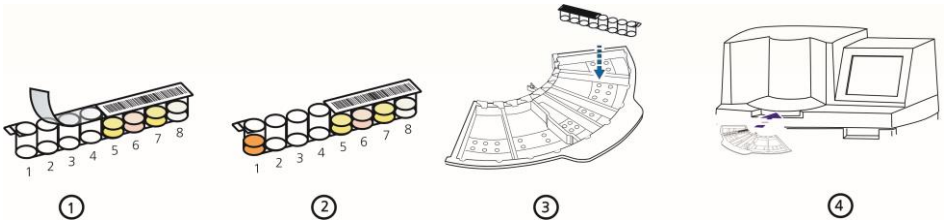
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и специфическим эталонным материалом IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-90 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	82,3	82,3	100
	1:200	40,1	41,2	97
	1:400	19,2	20,6	93
	1:800	11,7	10,3	114
2	1:100	88,6	88,6	100
	1:200	42,8	44,3	97
	1:400	23,8	22,2	107
	1:800	9,5	11,1	86
3	1:100	70,2	70,2	100
	1:200	33,9	35,1	97
	1:400	19,2	17,6	109
	1:800	9,1	8,8	104

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	14,5	2,2
2	50,7	1,9
3	81,1	4,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	14,9	6,8
2	52,2	5,4
3	76,6	58

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Первичный АФС	8	8	100,0
Вторичный АФС	65	61	93,8
Нормальная человеческая сыворотка	150	7	4,7

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 215S	Пол.	69	7	
Anti-Cardiolipin Screen	Отр.	4	143	
		73	150	223

Чувствительность:	94.5 %
Специфичность:	95.3 %
Общая согласованность:	95.1 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

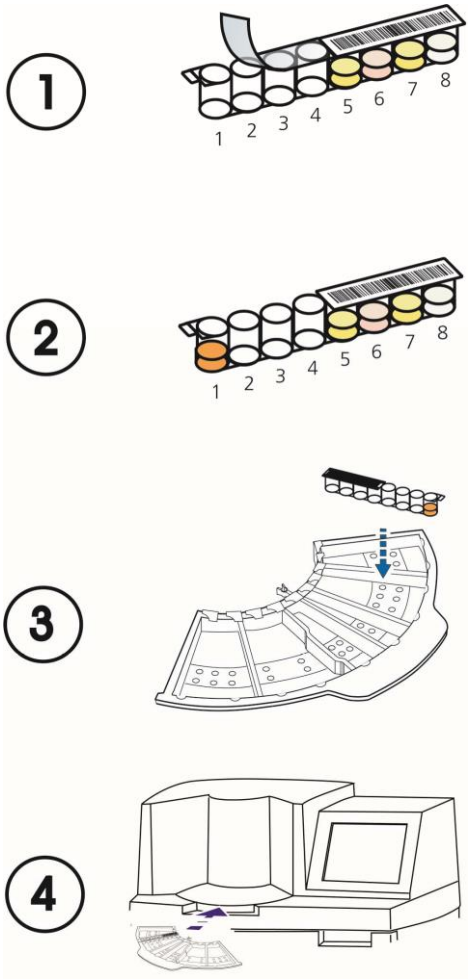
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2)Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

221A_4

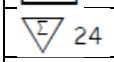
ORG 221A Anti-beta-2-Glycoprotein I IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-beta-2-Glycoprotein I IgA предназначена для количественного определения антител антител класса IgA к бета-2-гликопротеину I методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) — это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
221A_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU м	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Бета-2-гликопротеин I высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

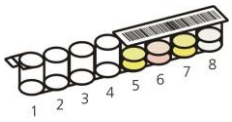
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **b2-GPI IgA** на печатной этикетке: **b2-GP1 IgA**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

хранения и использования.

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

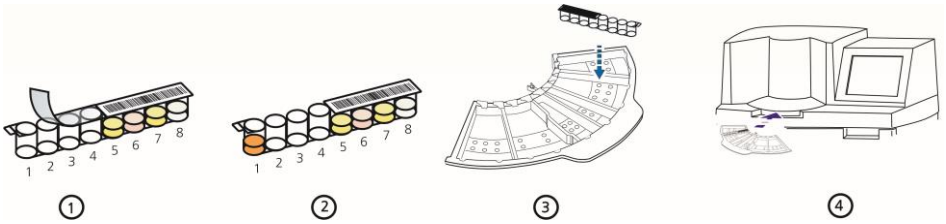
Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах. Калибровка осуществляется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 8 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 8 ед./мл
Пороговое значение	5- 8 ед/мл
Повышенный результат:	≥ 8 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	90,8	90,8	100
	1:200	44,6	45,4	98
	1:400	19,9	22,7	88
	1:800	13,0	11,4	115
2	1:100	80,5	80,5	100
	1:200	38,2	40,3	95
	1:400	18,2	20,1	90
	1:800	12,9	10,1	118
3	1:100	77,9	77,9	100
	1:200	40,5	39,0	104
	1:400	20,1	19,5	103
	1:800	8,6	9,7	88

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внтурианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,3	3,8
2	29,8	5,5
3	70,1	6,0

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,3	5,2
2	28,8	5,2
3	67,9	88

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Первичный АФС	8	4	50,0
Вторичный АФС	65	15	23,1
Нормальная человеческая сыворотка	150	4	2,7

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 221A	Пол.	19	4	
Anti-beta-2-Glycoprotein I IgA	Отр.	54	146	
		93	150	223

Чувствительность:	26.0 %
Специфичность:	97.3 %
Общая согласованность:	74.0 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

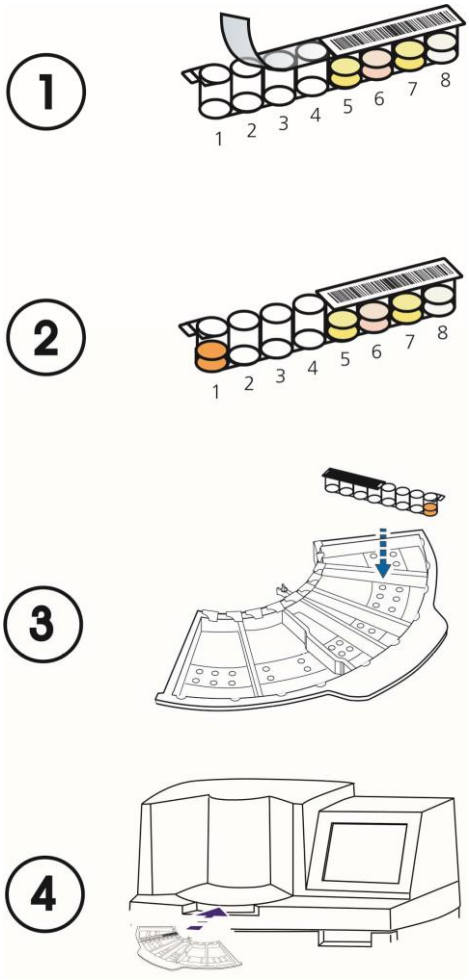
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

221G_4

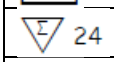
ORG 221G Anti-beta-2-Glycoprotein I IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-beta-2-Glycoprotein I IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к бета-2-гликопротеину I методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
221G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU м	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Бета-2-гликопротеин I высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

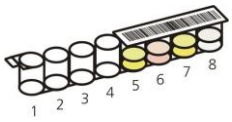
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **b2-GPI IgG** на печатной этикетке: **b2-GP1 IgG**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

хранения и использования.

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

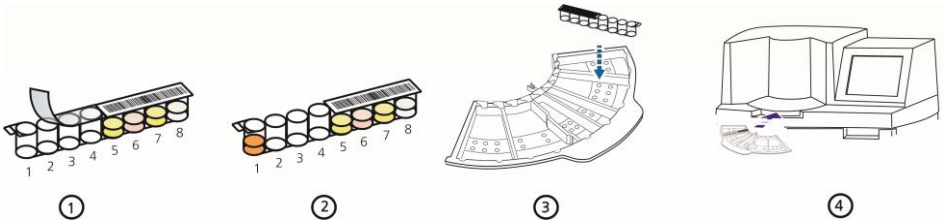
Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах. Калибровка осуществляется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 8 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 8 ед./мл
Пороговое значение	5- 8 ед/мл
Повышенный результат:	≥ 8 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	64,2	64,2	100
	1:200	34,1	32,1	106
	1:400	16,9	16,1	105
	1:800	7,6	8,0	95
2	1:100	53,9	53,9	100
	1:200	26,4	27,0	98
	1:400	12,9	13,5	96
	1:800	7,1	6,7	105
3	1:100	48,3	48,3	100
	1:200	25,9	24,2	107
	1:400	13,3	12,1	110
	1:800	6,8	6,0	113

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	17,7	4,2
2	46,7	2,9
3	82,6	2,5

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	18,2	8,3
2	45,6	7,0
3	80,9	56

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Первичный АФС	8	6	75,0
Вторичный АФС	65	55	84,6
Нормальная человеческая сыворотка	150	3	2,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 221G	Пол.	61	3	
Anti-beta-2-Glycoprotein I IgG	Отр.	12	147	
		73	150	223

Чувствительность:	83.6%
Специфичность:	98.0 %
Общая согласованность:	93.3 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

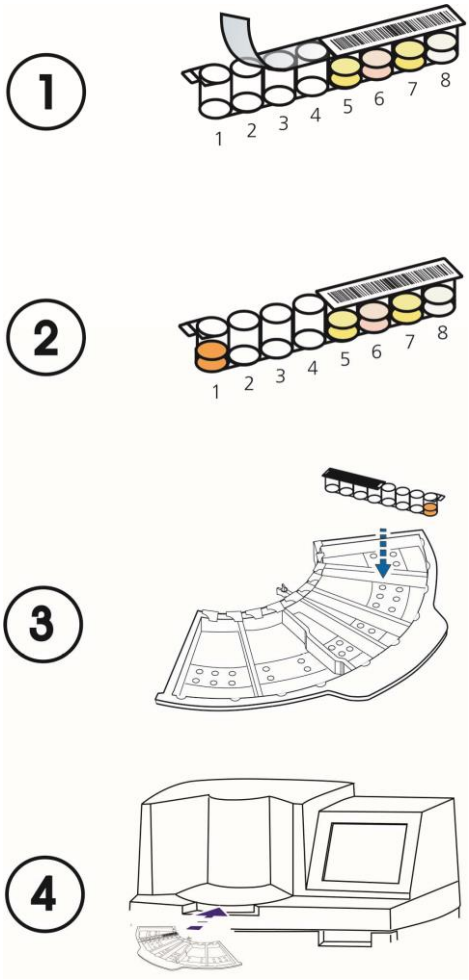
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

221M_4

ORG 221M Anti-beta-2-Glycoprotein I IgM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-beta-2-Glycoprotein I IgM предназначена для количественного определения антител класса IgM к бета-2-гликопротеину I методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) — это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
221M_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU м	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Бета-2-гликопротеин I высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

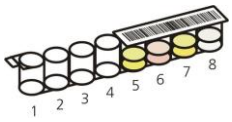
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **b2-GPI IgM** на печатной этикетке: **b2-GP1 IgM**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

хранения и использования.

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

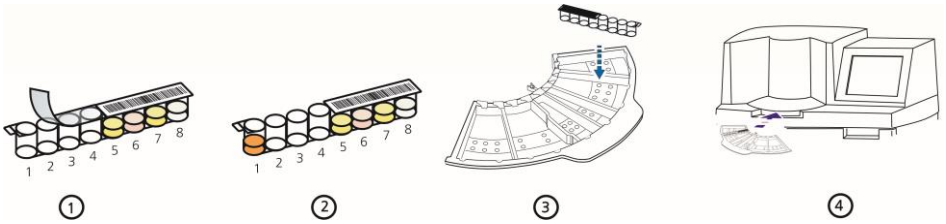
Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах. Калибровка осуществляется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 8 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 8 ед./мл
Пороговое значение	5- 8 ед/мл
Повышенный результат:	≥ 8 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	54,2	54,2	100
	1:200	28,3	27,1	104
	1:400	14,7	13,6	108
	1:800	7,0	6,8	103
2	1:100	48,8	48,8	100
	1:200	23,1	24,4	95
	1:400	10,6	12,2	87
	1:800	4,9	6,1	80
3	1:100	39,6	39,6	100
	1:200	22,5	19,8	114
	1:400	11,4	9,9	115
	1:800	6,2	5,0	125

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	11,5	3,9
2	33,6	6,7
3	70,5	5,6

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	11,9	5,3
2	35,1	6,4
3	75,2	79

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Первичный АФС	8	4	50,0
Вторичный АФС	65	28	43,1
Нормальная человеческая сыворотка	150	3	2,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 221M	Пол.	32	3	
Anti-beta-2-Glycoprotein I IgM	Отр.	41	147	
		73	150	223

Чувствительность:	43.8 %
Специфичность:	98.0 %
Общая согласованность:	80.3 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

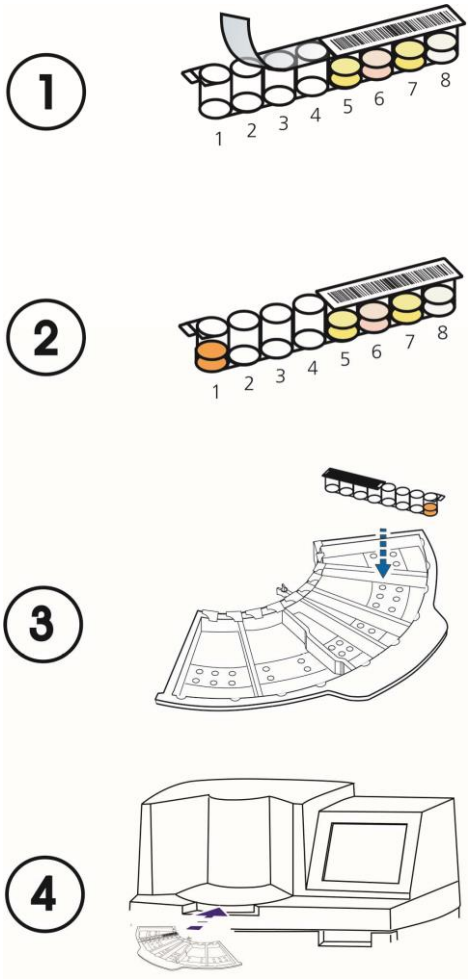
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

221S_4

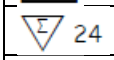
ORG 221S Anti-beta-2-Glycoprotein I Screen

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-beta-2-Glycoprotein I Screen предназначена для количественного определения (скрининга) антител класса IgM, IgA, IgG к бета-2-гликопротеину I методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) — это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
221S_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU м	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Бета-2-гликопротеин I высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

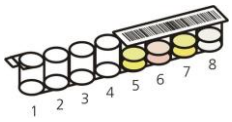
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP , антитела класса IgM, IgA и IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **b2-GPI Screen** на печатной этикетке: **b2-GP1 Screen**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

хранения и использования.

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

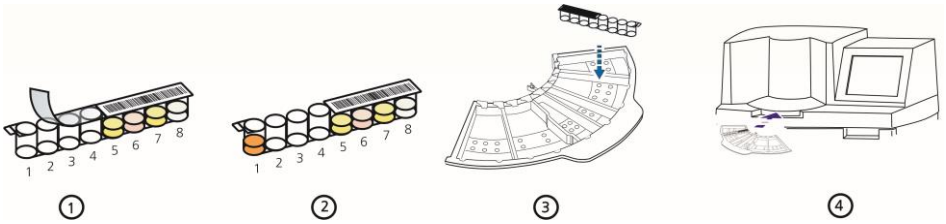
Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.
(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах. Калибровка осуществляется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-90 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	64,2	64,2	100
	1:200	34,1	32,1	106
	1:400	16,9	16,1	105
	1:800	7,6	8,0	95
2	1:100	53,9	53,9	100
	1:200	26,4	27,0	98
	1:400	12,9	13,5	96
	1:800	7,1	6,7	105
3	1:100	48,3	48,3	100
	1:200	25,9	24,2	107
	1:400	13,3	12,1	110
	1:800	6,8	6,0	113

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	24,5	4,4
2	50,7	2,4
3	84,5	2,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	22,7	8,9
2	47,3	8,1
3	84,9	3,1

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Первичный АФС	8	7	87,5
Вторичный АФС	65	61	93,8
Нормальная человеческая сыворотка	150	5	3,3

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 221S	Пол.	68	5	
Anti-beta-2-Glycoprotein I Screen	Отр.	5	145	
		73	150	223

Чувствительность:	93.2 %
Специфичность:	96.7 %
Общая согласованность:	95.5 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

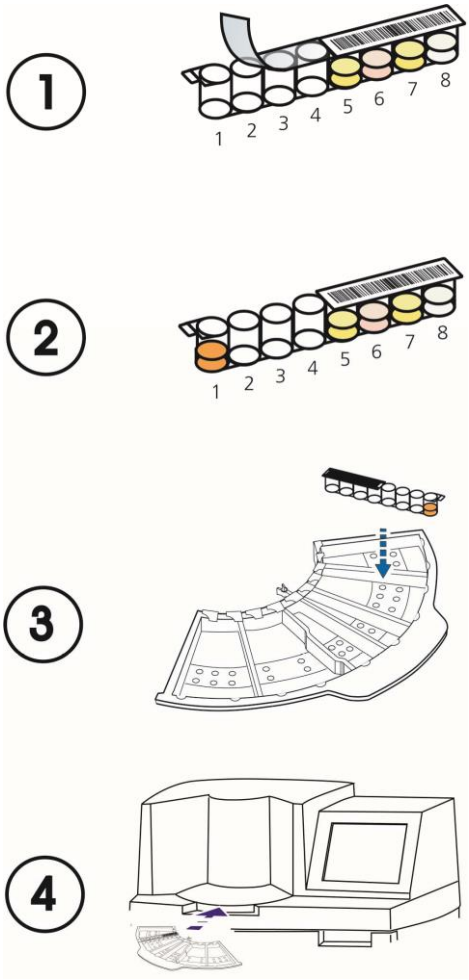
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

229G_4

ORG 229G Anti-Phospholipid Screen IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Phospholipid Screen IgG предназначена для количественного определения (скрининга) антител класса IgG к кардиолипину, фосфатидилсерину, фосфатидилинозитолу, фосфатидиловой кислоте и бета-2-гликопротеину 1 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
229G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Смесь кардиолипина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозитола, фосфатидиловой кислоты и бета-2-гликопротеина 1 высокой степени очистки связываются с микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

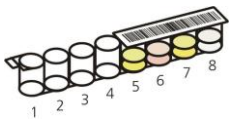
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **PL Screen IgG** на печатной этикетке: **PLScr-G**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

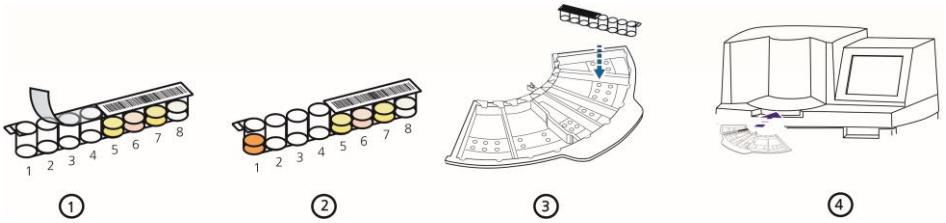
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Калибровка осуществляется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 GPL ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 GPL ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 GPL ед./мл.
Повышенный результат:	≥ 10 GPL ед./мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		GPL ед./мл.	GPL ед./мл.	(%)
1	1:100	83,6	83,6	100
	1:200	40,3	41,8	96
	1:400	19,9	20,9	95
	1:800	10,6	10,5	101
2	1:100	77,9	77,9	100
	1:200	40,2	39,0	103
	1:400	19,7	19,5	101
	1:800	9,5	9,7	98
3	1:100	68,5	68,5	100
	1:200	34,6	34,3	101
	1:400	17,5	17,1	102
	1:800	8,3	8,6	97

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 GPL ед./мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, GPL ед./мл.	КВ, %
1	17,3	4,0
2	35,6	1,7
3	73,4	5,6

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, GPL ед./мл.	КВ, %
1	17,4	2,6
2	34,0	4,9
3	70,2	80

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Первичный АФС	8	7	87,5
Вторичный АФС	65	58	89,2
Нормальная человеческая сыворотка	150	4	2,7

Иммунологический диагноз

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 229G	Пол.	65	4	
Anti-Phospholipid Screen IgG	Отр.	8	146	
		73	150	223

Чувствительность:	89.0 %
Специфичность:	97.3 %
Общая согласованность:	94.6 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

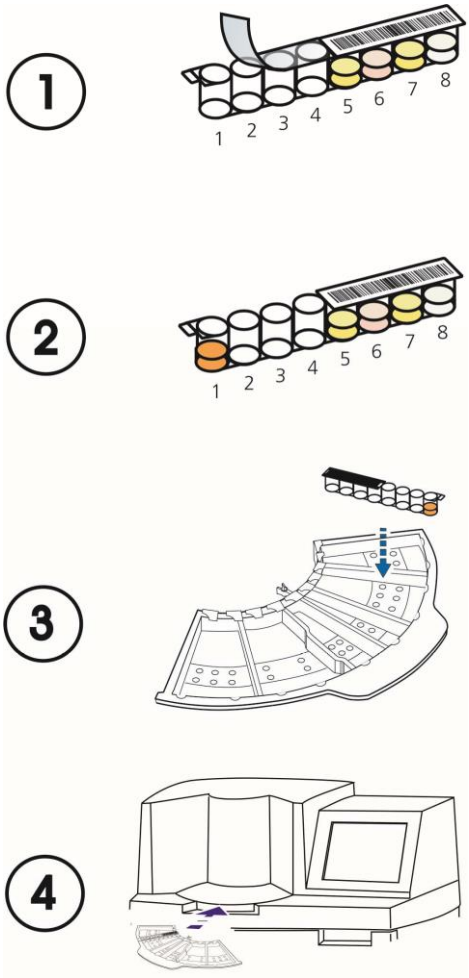
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2)Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

229M_4

ORG 229M Anti-Phospholipid Screen IgM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Phospholipid Screen IgM предназначена для количественного определения (скрининга) антител класса IgM к кардиолипину, фосфатидилсерину, фосфатидилинозитолу, фосфатидиловой кислоте и бета-2-гликопротеину 1 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
229M_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Смесь кардиолипина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозитола, фосфатидиловой кислоты и бета-2-гликопротеина 1 высокой степени очистки связываются с микролунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

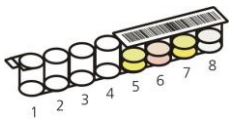
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **PL Screen IgM** на печатной этикетке: **PLScr-M**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

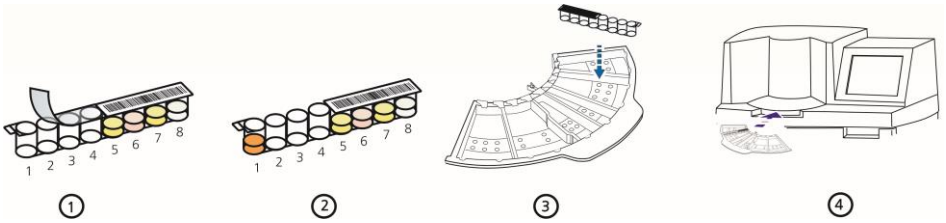
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Калибровка осуществляется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 MPL ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 MPL ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 MPL ед./мл.
Повышенный результат:	≥ 10 MPL ед./мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		MPL ед./мл.	MPL ед./мл.	(%)
1	1:100	94,6	94,6	100
	1:200	45,6	47,3	96
	1:400	22,3	23,7	94
	1:800	12,3	11,8	104
2	1:100	82,6	82,6	100
	1:200	43,0	41,3	104
	1:400	19,5	20,7	94
	1:800	9,9	10,3	96
3	1:100	62,3	62,3	100
	1:200	32,1	31,2	103
	1:400	15,2	15,6	98
	1:800	7,5	7,8	96

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 MPL ед./мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, MPL ед./мл.	КВ, %
1	16,4	0,9
2	31,2	2,3
3	65,6	6,7

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, MPL ед./мл.	КВ, %
1	15,8	3,6
2	29,6	6,0
3	69,9	90

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Первичный АФС	8	5	62,5
Вторичный АФС	65	30	46,2
Нормальная человеческая сыворотка	150	5	3,3

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 229M	Пол.	35	5	
Anti-Phospholipid Screen IgM	Отр.	38	145	
		73	150	223

Чувствительность:	47.9 %
Специфичность:	96.7 %
Общая согласованность:	80.7 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

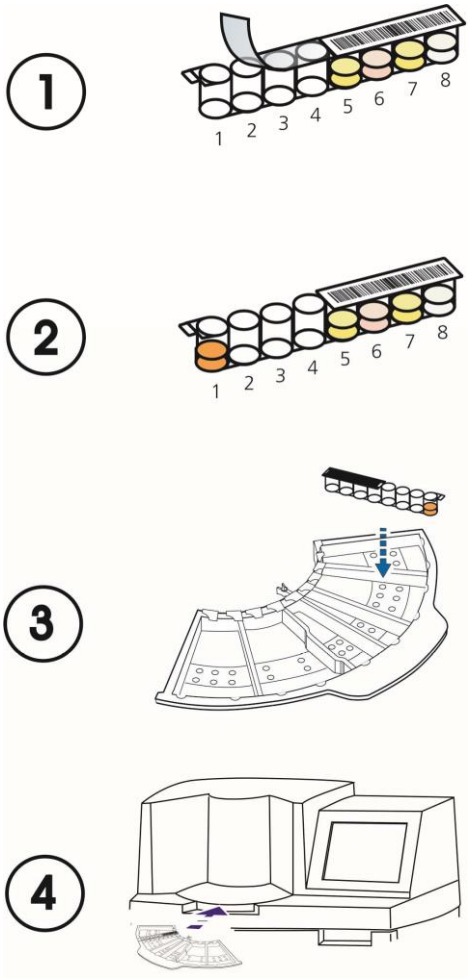
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2)Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

235G_4

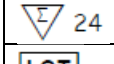
ORG 235G Anti-Phosphatidyl Serine IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Phoshatidyl Serine IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к фосфатидилсерину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
235G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Фосфатидилсерин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками, насыщенными бета-2-гликопротеином I.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

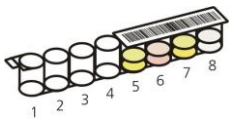
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Phosph Serine IgG** на печатной этикетке: **PS-Ser-G**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

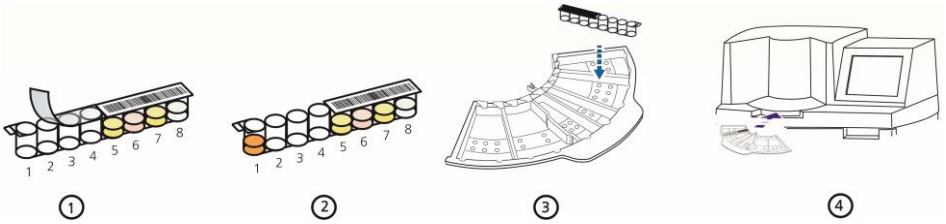
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Калибровка осуществляется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 GPL ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 GPL ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 GPL ед./мл.
Повышенный результат:	≥ 10 GPL ед./мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		GPL ед./мл.	GPL ед./мл.	(%)
1	1:100	85,6	85,6	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	40,9	42,8	96
	1:400	20,6	21,4	96
	1:800	11,5	10,7	107
2	1:100	65,2	65,2	100
	1:200	34,1	32,6	105
	1:400	15,6	16,3	96
	1:800	8,5	8,2	104
3	1:100	92,5	92,5	100
	1:200	45,6	46,3	99
	1:400	24,5	23,1	106
	1:800	12,0	11,6	104

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 GPL ед./мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, GPL ед./мл.	КВ, %
1	15,6	2,6
2	42,5	3,8
3	65,4	2,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, GPL ед./мл.	КВ, %
1	16,4	7,2
2	45,9	8,5
3	68,3	99

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Первичный АФС	8	6	75,0
Вторичный АФС	65	53	81,5
Нормальная человеческая сыворотка	150	6	4,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 235G	Пол.	59	6	
Anti-Phosphatidyl Serine IgG	Отр.	14	144	
		73	150	223

Чувствительность:	80.8 %
Специфичность:	96.0%
Общая согласованность:	91.0%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

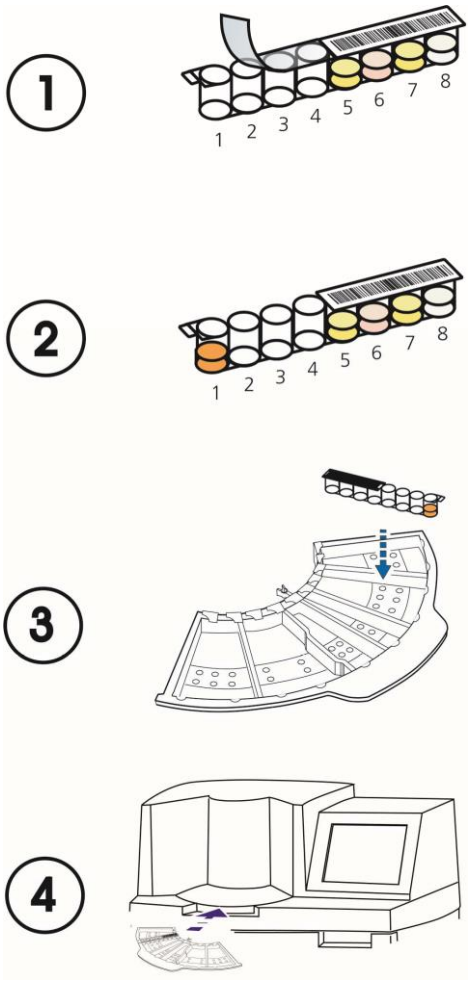
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

235M_4

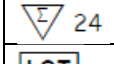
ORG 235M Anti-Phoshatidyl Serine IgM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Phoshatidyl Serine IgM предназначена для количественного определения антител класса IgM к фосфатидилсерину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) — это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
235M_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Фосфатидилсерин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками, насыщенными бета-2-гликопротеином I.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

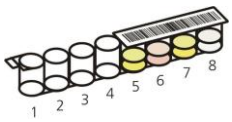
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Phosph Serine IgM** на печатной этикетке: **PS-Ser- M**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

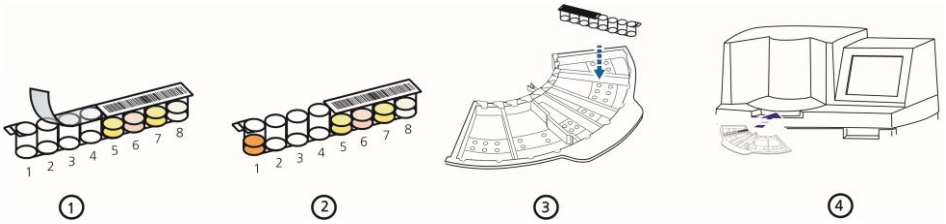
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Калибровка осуществляется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 MPL ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 MPL ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 MPL ед./мл.
Повышенный результат:	≥ 10 MPL ед./мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		MPL ед./мл.	MPL ед./мл.	(%)
1	1:100	91,1	91,1	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	44,7	45,6	98
	1:400	23,1	22,8	101
	1:800	11,8	11,4	104
2	1:100	43,1	43,1	100
	1:200	20,9	21,6	97
	1:400	11,0	10,8	102
	1:800	5,3	5,4	98
3	1:100	73,3	73,3	100
	1:200	35,9	36,7	98
	1:400	18,9	18,3	103
	1:800	9,0	9,2	98

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 MPL ед./мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внтурианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, MPL ед./мл.	КВ, %
1	16,8	1,1
2	31,1	1,3
3	66,5	5,9

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, MPL ед./мл.	КВ, %
1	16,4	7,2
2	45,9	8,5
3	68,3	99

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Первичный АФС	8	4	50,0
Вторичный АФС	65	25	38,5
Нормальная человеческая сыворотка	150	3	2,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 235M	Пол.	29	3	
Anti-Phosphatidyl Serine IgM	Отр.	44	147	
		73	150	223

Чувствительность:	39.7%
Специфичность:	98.0 %
Общая согласованность:	78.9%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

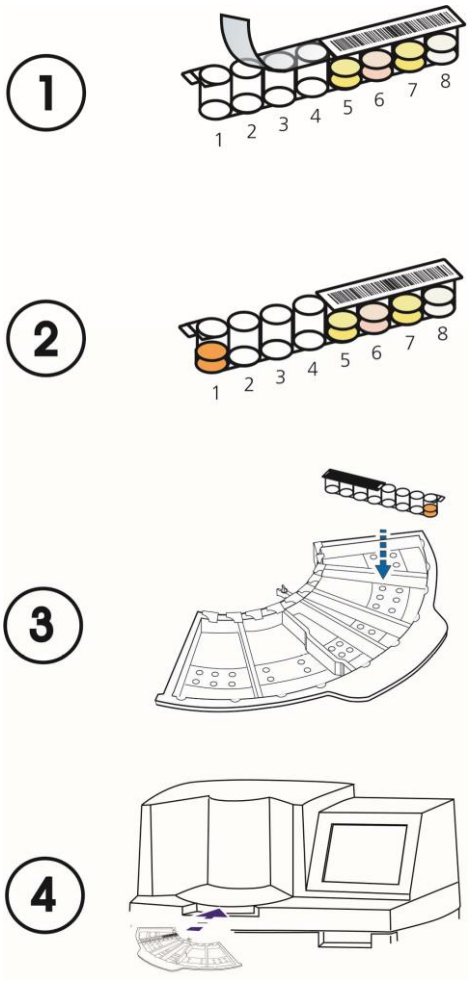
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

236G_4

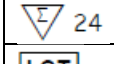
ORG 236G Anti-Phosphatidyl Inositol IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Phosphatidyl Inositol IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к фосфатидилинозитолу методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
236G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Фосфатидилинозитол высокой степени очистки связывается с реакционными лунками, насыщенными бета-2-гликопротеином I.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

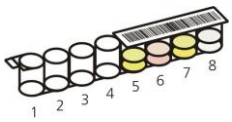
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Phosph Inosit IgG** на печатной этикетке: **Phosph Inosit IgG**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

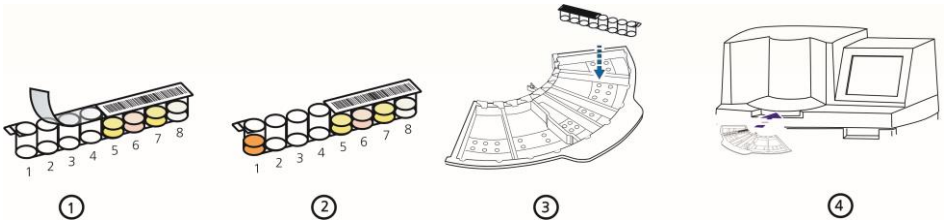
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Калибровка осуществляется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 GPL ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 GPL ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 GPL ед./мл.
Повышенный результат:	≥ 10 GPL ед./мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное	Ожидаемое	Соотнош
		GPL ед./мл.	GPL ед./мл.	(%)
1	1:100	87,4	87,4	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	44,6	43,7	102
	1:400	22,6	21,9	103
	1:800	11,0	10,9	101
2	1:100	63,2	63,2	100
	1:200	30,2	31,6	96
	1:400	15,6	15,8	99
	1:800	8,1	7,9	103
3	1:100	51,1	51,1	100
	1:200	25,0	25,6	98
	1:400	12,9	12,8	101
	1:800	6,3	6,4	99

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 GPL ед./мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, GPL ед./мл.	КВ, %
1	14,4	3,7
2	31,1	2,9
3	58,4	4,2

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, GPL ед./мл.	КВ, %
1	13,7	8,8
2	31,2	6,5
3	52,9	9,3

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Первичный АФС	8	6	75,0
Вторичный АФС	65	51	78,5
Нормальная человеческая сыворотка	150	6	4,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 236G	Пол.	57	6	
Anti-Phosphatidyl Inositol IgG	Отр.	16	144	
		73	150	223

Чувствительность:	78.1 %
Специфичность:	96.0%
Общая согласованность:	90.1%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

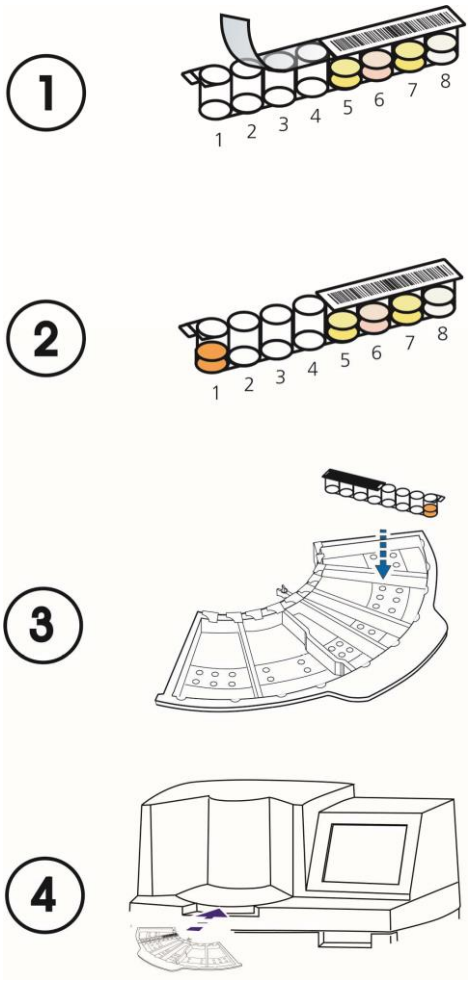
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

236M_4

ORG 236M Anti-Phosphatidyl Inositol IgM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Phosphatidyl Inositol IgM предназначена для количественного определения антител класса IgM к фосфатидилинозитолу методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
236M_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Фосфатидилинозитол высокой степени очистки связывается с реакционными лунками, насыщенными бета-2-гликопротеином I.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

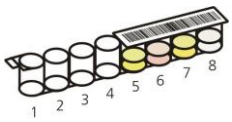
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Phosph Inosit IgM** на печатной этикетке: **PS-Ino-M**

WASH 1 х 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

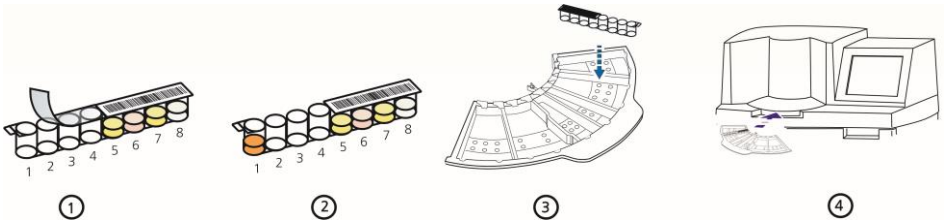
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Калибровка осуществляется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 MPL ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 MPL ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 MPL ед./мл.
Повышенный результат:	≥ 10 MPL ед./мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		MPL ед./мл.	MPL ед./мл.	(%)
1	1:100	87,4	87,4	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	44,6	43,7	102
	1:400	22,6	21,9	103
	1:800	11,0	10,9	101
2	1:100	63,2	63,2	100
	1:200	30,2	31,6	96
	1:400	15,6	15,8	99
	1:800	8,1	7,9	103
3	1:100	51,1	51,1	100
	1:200	25,0	25,6	98
	1:400	12,9	12,8	101
	1:800	6,3	6,4	99

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 MPL ед./мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, MPL ед./мл.	КВ, %
1	12,3	2,0
2	27,6	2,4
3	55,9	4,7

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, MPL ед./мл.	КВ, %
1	12,4	2,6
2	27,9	5,1
3	57,0	97

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Первичный АФС	8	4	50,0
Вторичный АФС	65	22	33,8
Нормальная человеческая сыворотка	150	4	2,7

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 236M	Пол.	26	4	
Anti-Phosphatidyl Inositol IgM	Отр.	47	146	
		73	150	223

Чувствительность:	35.6%
Специфичность:	97.3 %
Общая согласованность:	77.1%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

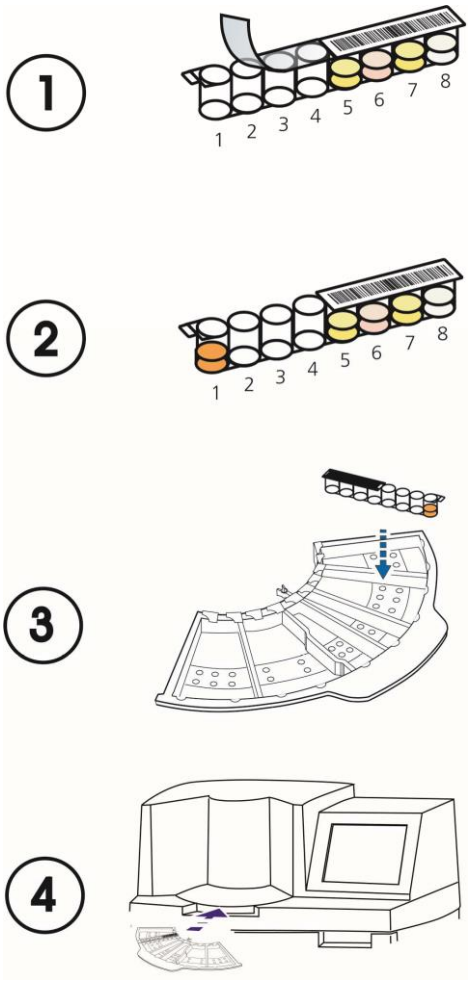
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

237G_4

ORG 237G Anti-Phosphatidic Acid IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Phosphatidic Acid IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к фосфатидиловой кислоте методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
237G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

фосфатидиловая кислота высокой степени очистки связывается с реакционными лунками, насыщенными бета-2-гликопротеином I.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

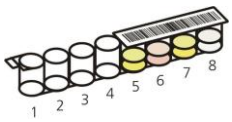
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Phosph Acid IgG** на печатной этикетке: **PS-Aci-G**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

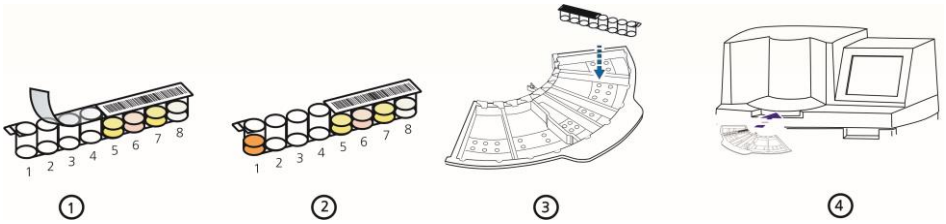
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Калибровка осуществляется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 АФА ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 GPL ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 GPL ед./мл.
Повышенный результат:	≥ 10 GPL ед./мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		GPL ед./мл.	GPL ед./мл.	(%)
1	1:100	86,9	86,9	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	44,9	43,5	103
	1:400	21,3	21,7	98
	1:800	11,0	10,9	101
2	1:100	69,3	69,3	100
	1:200	35,1	34,7	101
	1:400	17,0	17,3	98
	1:800	8,8	8,7	102
3	1:100	42,1	42,1	100
	1:200	20,5	21,1	97
	1:400	10,3	10,5	98
	1:800	5,4	5,3	103

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 GPL ед./мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, GPL ед./мл.	КВ, %
1	18,6	3,4
2	34,8	2,4
3	63,5	6,6

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, GPL ед./мл.	КВ, %
1	18,3	3,1
2	35,7	6,7
3	61,5	70

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Первичный АФС	8	5	62,5
Вторичный АФС	65	51	78,5
Нормальная человеческая сыворотка	150	6	4,0

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 237G	Пол.	56	6	
Anti-Phosphatidyl Acid IgG	Отр.	17	144	
		73	150	223

Чувствительность:	76.7%
Специфичность:	96.0%
Общая согласованность:	89.7%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

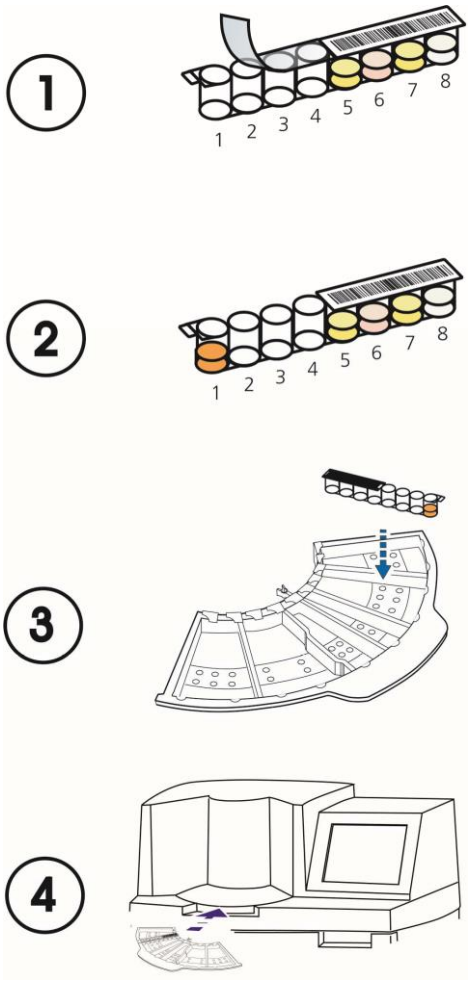
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

237M_4

ORG 237M Anti-Phosphatidic Acid IgM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Phosphatidic Acid IgM предназначена для количественного определения антител класса IgM к фосфатидиловой кислоте методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) — это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
237M_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Фосфатидиловая кислота высокой степени очистки связывается с реакционными лунками, насыщенными бета-2-гликопротеином I.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

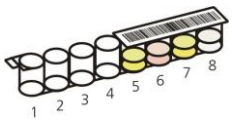
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Phosph Acid IgM** на печатной этикетке: **PS-Aci- M**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

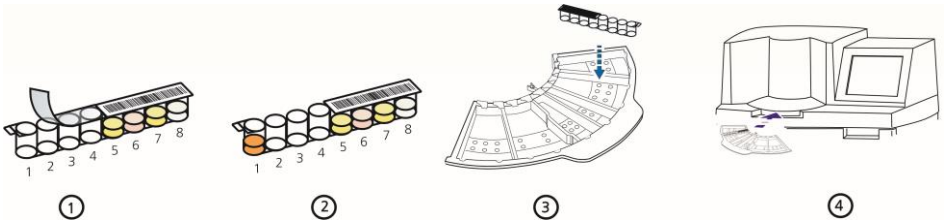
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Калибровка осуществляется по международно признанным эталонным сывороткам от E.N. Harris, Louisville и IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 MPL ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 MPL ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 MPL ед./мл.
Повышенный результат:	≥ 10 MPL ед./мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		MPL ед./мл.	MPL ед./мл.	(%)
1	1:100	91,3	91,3	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	46,9	45,7	103
	1:400	23,2	22,8	102
	1:800	11,1	11,4	97
2	1:100	80,2	80,2	100
	1:200	40,8	40,1	102
	1:400	19,6	20,1	98
	1:800	10,1	10,0	101
3	1:100	69,9	69,9	100
	1:200	36,5	35,0	104
	1:400	17,9	17,5	102
	1:800	8,6	8,7	98

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 MPL ед./мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, MPL ед./мл.	КВ, %
1	12,1	2,7
2	24,9	1,2
3	69,9	4,5

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, MPL ед./мл.	КВ, %
1	11,9	3,7
2	25,0	4,3
3	64,0	82

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Первичный АФС	8	4	50,0
Вторичный АФС	65	21	32,3
Нормальная человеческая сыворотка	150	2	1,3

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 237M	Пол.	25	2	
Anti-Phosphatidyl Acid IgM	Отр.	48	148	
		73	150	223

Чувствительность:	34.2%
Специфичность:	98.7%
Общая согласованность:	77.6%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

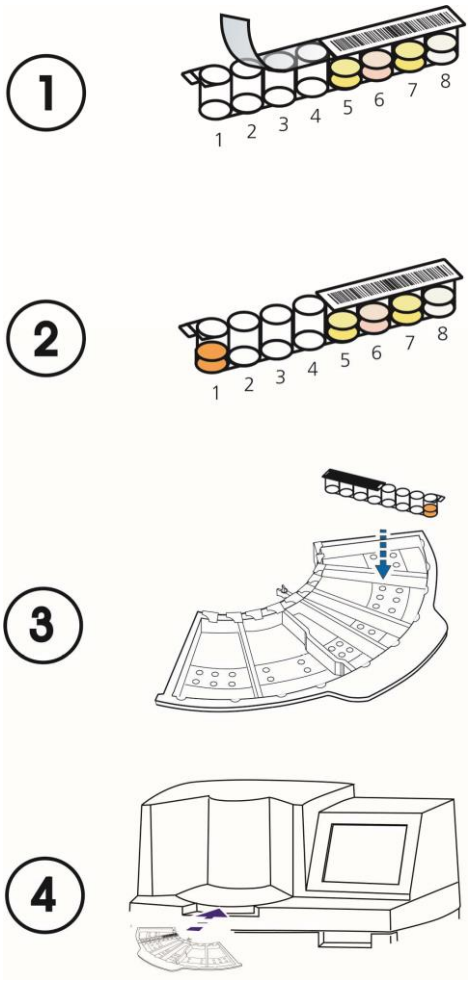
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

241A_4

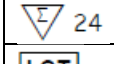
ORG 241A Anti-Prothrombin IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Prothrombin IgA предназначена для количественного определения антител класса IgA к протромбину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
241A_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Протромбин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

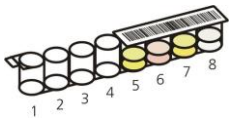
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Prothromb IgA** на печатной этикетке: **PTIgA**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

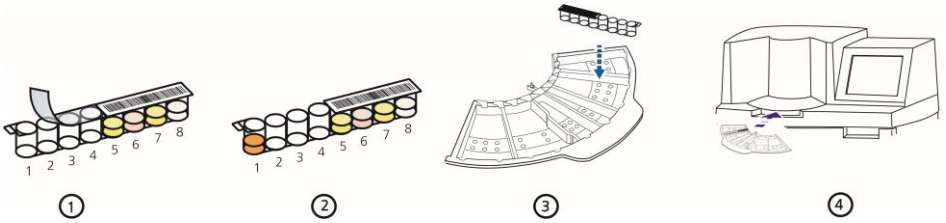
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	95,6	95,6	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	44,9	47,8	94
	1:400	25,1	23,9	105
	1:800	11,4	12,0	95
2	1:100	75,1	75,1	100
	1:200	39,6	37,6	105
	1:400	19,5	18,8	104
	1:800	10,0	9,4	107
3	1:100	81,5	81,5	100
	1:200	38,9	40,8	95
	1:400	21,5	20,4	106
	1:800	11,0	10,2	108

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	15,7	0,5
2	37,8	2,7
3	71,5	3,9

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	15,5	2,9
2	36,3	5,0
3	69,5	52

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Антифосфолипидный синдром	60	15	25,0
Нормальная человеческая	150	1	0,7

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 241A	Пол.	15	1	
Anti-Prothrombin IgA	Отр.	45	149	
		60	150	210

Чувствительность:	25.0%
Специфичность:	99,3%
Общая согласованность:	78.1%

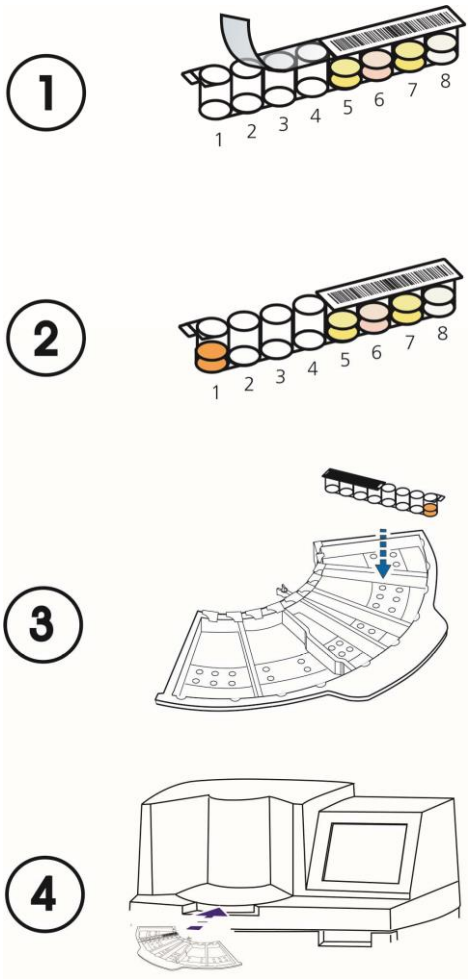
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

241G_4

ORG 241G Anti-Prothrombin IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Prothrombin IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к протромбину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
241G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Протромбин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

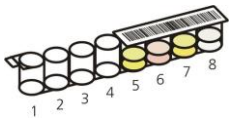
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Prothromb IgG** на печатной этикетке: **PTIgG**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

герметичном пакете.

- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

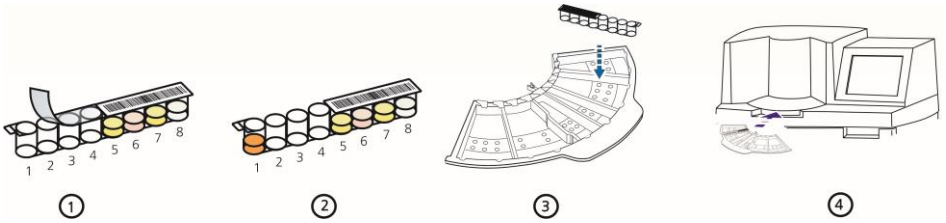
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	85,4	85,4	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	44,5	42,7	104
	1:400	20,3	21,4	95
	1:800	11,2	10,7	105
2	1:100	79,2	79,2	100
	1:200	37,5	39,6	95
	1:400	21,3	19,8	108
	1:800	9,3	9,9	94
3	1:100	91,2	91,2	100
	1:200	47,6	45,6	104
	1:400	24,5	22,8	107
	1:800	11,6	11,4	102

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	11,1	3,9
2	21,8	2,6
3	42,1	3,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	11,1	2,8
2	21,9	2,8
3	42,8	38

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция		n	**n pos**	%
Антифосфолипидный синдром		60	20	33,3
Нормальная человеческая сыворотка	150		4	2,7

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 241G	Пол.	20	4	
Anti-Prothrombin IgG	Отр.	40	146	
		60	150	210

Чувствительность:	33.3%
Специфичность:	97.3%
Общая согласованность:	79.0%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

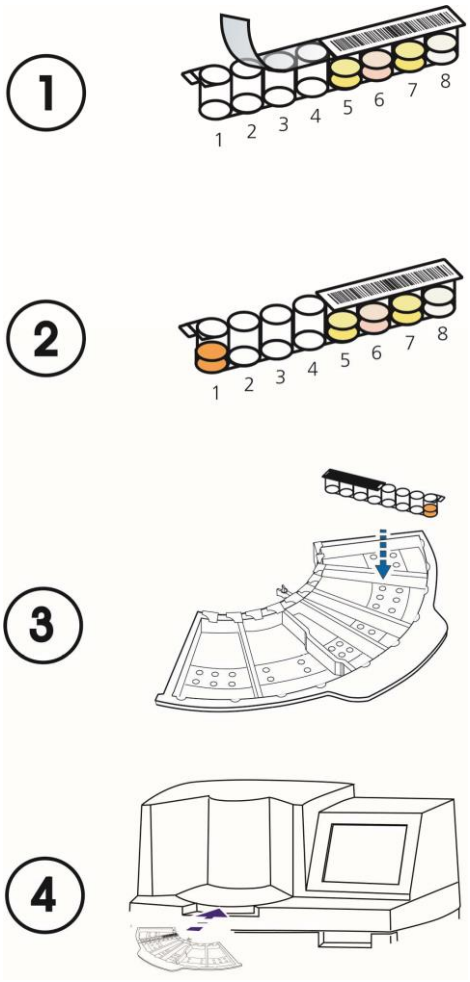
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

241M_4

ORG 241M Anti-Prothrombin IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Prothrombin IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к протромбину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
241M_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Протромбин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

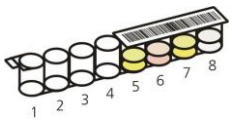
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Prothromb IgM** на печатной этикетке: **PTIgM**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

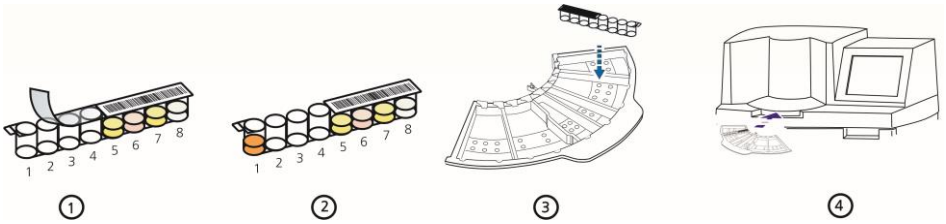
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	> 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1	1:100	98,2	98,2	100
	1:200	52,3	49,1	107
	1:400	23,6	24,6	96
	1:800	12,7	12,3	103
2	1:100	72,6	72,6	100
	1:200	38,5	36,3	106
	1:400	17,5	18,2	96
	1:800	9,5	9,1	105
3	1:100	89,6	89,6	100
	1:200	42,5	44,8	95
	1:400	23,5	22,4	105
	1:800	11,5	11,2	103

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	17,3	3,5
2	35,9	3,3
3	61,1	2,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	17,5	4,2
2	36,1	3,6
3	61,0	30

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Антифосфолипидный синдром	60	20	33,3
Нормальная человеческая сыворотка	150	2	1,3

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 241M	Пол.	20	2	
Anti-Prothrombin IgM	Отр.	40	148	
		60	150	210

Чувствительность:	33.3%
Специфичность:	98.7%
Общая согласованность:	80.0%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

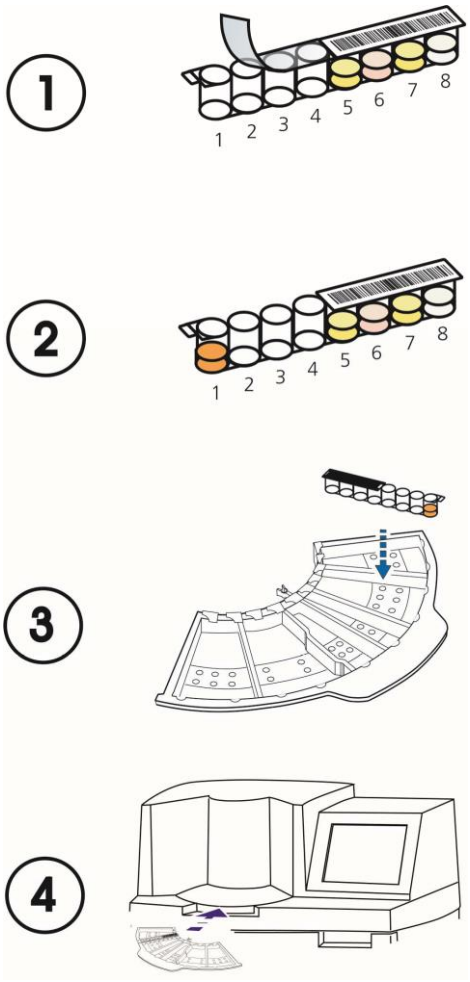
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

241S_4

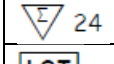
ORG 241S Anti-Prothrombin Screen

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Prothrombin Screen предназначена для количественного определения (скрининга) антител класса IgG, IgA и IgM к протромбину методом иммуноферментного анализа в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) — это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
241S_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Протромбин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

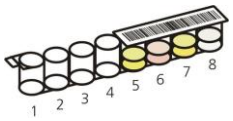
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP , антитела класса IgM, IgA и IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Prothromb Screen** на печатной этикетке: **PTScr**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

герметичном пакете.

- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

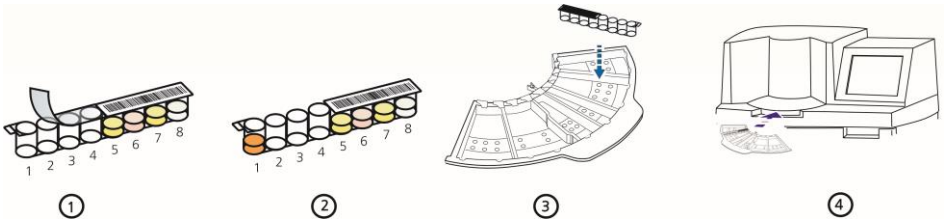
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 20 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 20 ед./мл
Повышенный результат:	> 20 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	92,5	92,5	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	49,1	46,3	106
	1:400	21,3	23,1	92
	1:800	12,0	11,6	104
2	1:100	72,5	72,5	100
	1:200	33,2	36,3	92
	1:400	17,5	18,1	97
	1:800	9,4	9,1	104
3	1:100	79,2	79,2	100
	1:200	41,2	39,6	104
	1:400	21,2	19,8	107
	1:800	10,2	9,9	103

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	25,3	2,1
2	52,8	3,9
3	92,3	1,9

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	25,0	7,4
2	53,6	4,7
3	94,6	24

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция		n	**n pos**	%
Антифосфолипидный синдром		60	22	36,7
Нормальная человеческая сыворотка	150		4	2,7

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 241S	Пол.	22	4	
Anti-Prothrombin Screen	Отр.	38	146	
		60	150	210

Чувствительность:	36.7%
Специфичность:	97.3%
Общая согласованность:	80.0%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

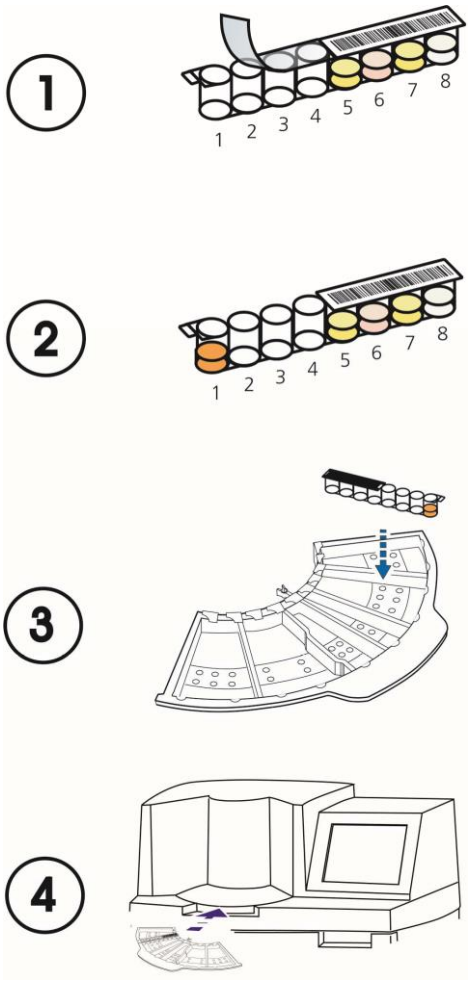
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

243G_4

ORG 243G Anti-Annexin V IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Annexin V IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к аннексину V методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
243G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Аннексин V человека связываются с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

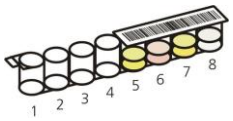
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **AnnexVIgG** на печатной этикетке: ***AnnexV-G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

герметичном пакете.

- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

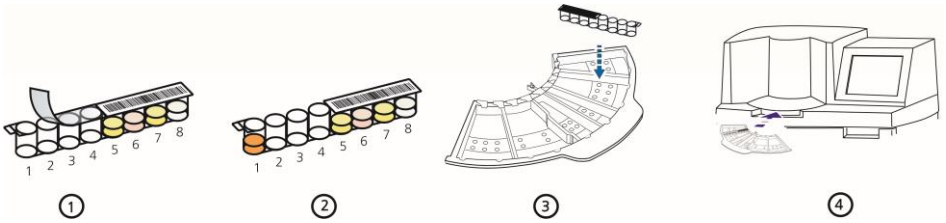
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 8 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 5 ед./мл
Пороговое значение	5- 8 ед/мл
Повышенный результат:	> 8 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1	1:100	96,3	96,3	100
	1:200	48,9	48,2	102
	1:400	23,9	24,1	99
	1:800	12,2	12,0	101
2	1:100	65,3	65,3	100
	1:200	32,9	32,7	101
	1:400	16,2	16,3	99
	1:800	8,1	8,2	99
3	1:100	26,6	26,6	100
	1:200	13,1	13,3	98
	1:400	6,8	6,7	102
	1:800	3,4	3,3	102

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	14,7	1,9
2	41,0	2,5
3	95,5	2,7

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	14,7	2,8
2	41,6	8,2
3	92,2	63

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Невынашивание беременности	26	13	50,0
Нормальная человеческая сыворотка	120	5	4,2

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 243G	Пол.	13	5	
Annexin V IgG	Отр.	13	115	
		26	120	146

Чувствительность:	50.0%
Специфичность:	95.8%
Общая согласованность:	87.7%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

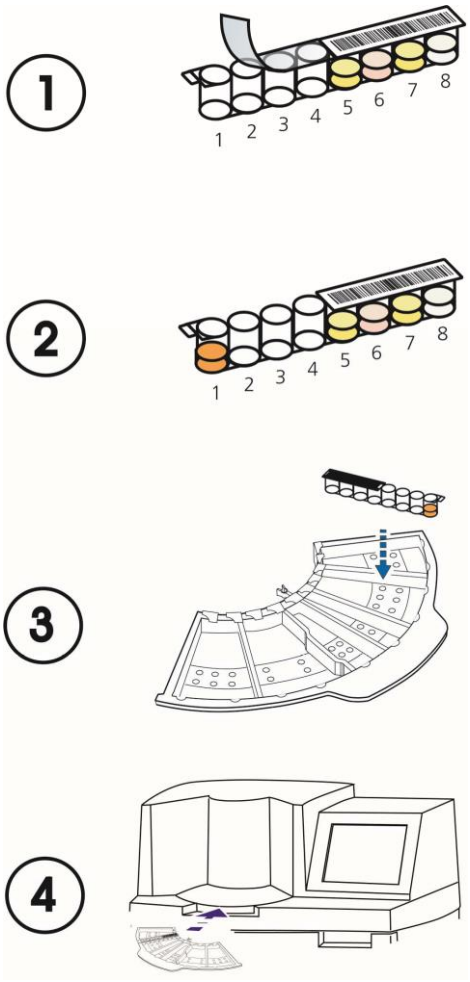
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

243M_4

ORG 243M Anti-Annexin V IgM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Annexin V IgM предназначена для количественного определения антител класса IgM к аннексину V методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - это системное аутоиммунное заболевание, которое служит причиной тромбозов, привычного невынашивания беременности или внутриутробной гибели плода, а также инсультов. Клинические симптомы сопровождаются образованием в крови специфических аутоантител, которые связывают фосфолипиды, такие как кардиолипин или фосфолипид-связывающие белки подобно бета-2-гликопротеину I. Аутоантитела к белкам коагулирующей системы, например, протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов, страдающих от АФС с отрицательными результатами на антитела к фосфолипидам. При первичном АФС аутоантитела к фосфолипидам появляются самостоятельно, а при вторичном АФС антитела к фосфолипидам обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
243M_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Аннексин V человека связываются с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

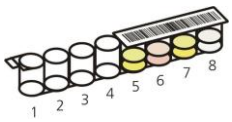
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **AnnexVIgM** на печатной этикетке: ***AnnexV-M***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

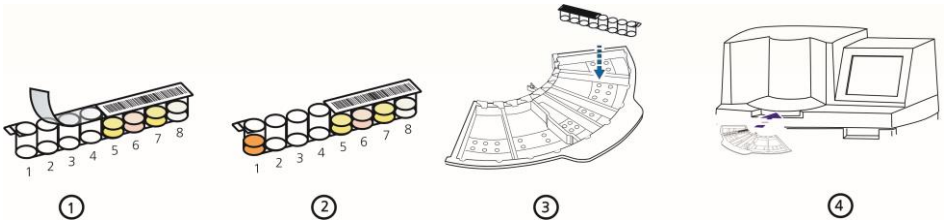
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 8 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 5 ед./мл
Пороговое значение	5- 8 ед/мл
Повышенный результат:	> 8 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	88,6	88,6	100
	1:200	45,2	44,3	102
	1:400	22,5	22,2	102
	1:800	11,2	11,1	101
2	1:100	50,6	50,6	100
	1:200	25,6	25,3	101
	1:400	12,3	12,7	97
	1:800	6,2	6,3	98
3	1:100	36,9	36,9	100
	1:200	18,7	18,5	101
	1:400	9,1	9,2	99
	1:800	4,7	4,6	102

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	10,7	1,2
2	21,8	1,4
3	50,1	4,0

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	10,8	3,7
2	21,5	4,7
3	50,0	99

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	**n pos**	%
Невынашивание беременности	26	9	34,6
Нормальная человеческая сыворотка	120	4	3,3

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 243M	Пол.	9	4	
Annexin V IgM	Отр.	17	116	
		26	120	146

Чувствительность:	34.6%
Специфичность:	96.7%
Общая согласованность:	85.6%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

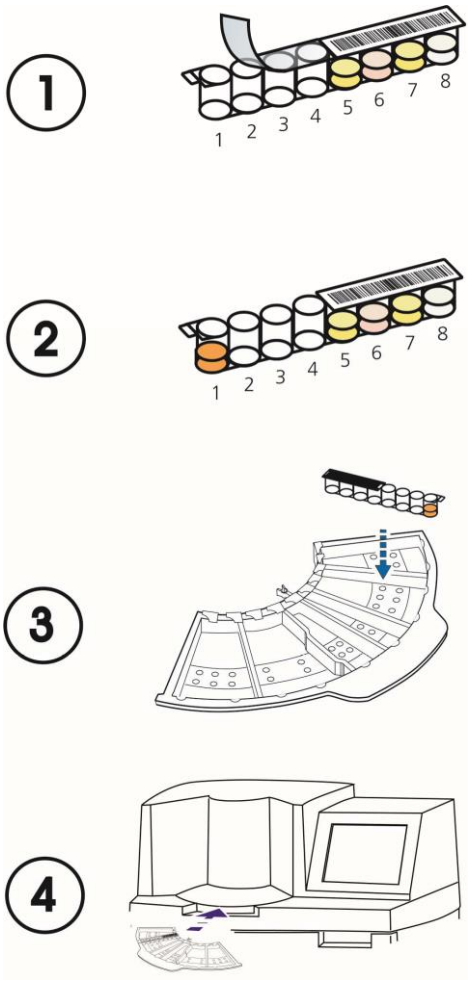
1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2 Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2): 191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4): 192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Fava loro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011 ; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, loannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lend 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3): 129-33.
16. Lakes G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tri pod i A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011 ; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anticardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

916A_3

ORG 916A Anti-B. pertussis Toxin IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-B. pertussis Toxin IgA для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgA к токсину Bordetella pertussis методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Согласно рекомендациям Европейского консенсуса для референс-лабораторий по Bordetella pertussis, результаты, полученные с помощью тест-систем для опреределения антител класса IgA и IgG к токсину B. pertussis, могут подтвердить недавний контакт с этим патогеном.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
916A_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Нативный инактивированнй токсин pertussis наносится на рекационные лунки.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

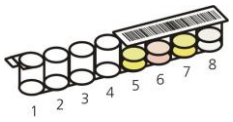
попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***B pert toxin IgA*** на печатной этикетке ***PerTox-A***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Данная тест-система откалибрована по международному эталонному препарату ВОЗ (NIBSC код 06/140 и 06/142).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0– 60 МЕ/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 12 МЕ/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 12 МЕ/мл
Положительный результат	> 12 МЕ/мл

Европейский консенсус для референс-лабораторий предлагает двухступенчатое определение порогового значения [3]. Однако его можно использовать только в том случае, если пациент не был привит бесклеточной вакциной в течение последних 12 месяцев.

Антитела к токсину B. pertussis		**Интерпретация результатов**
IgG < 50 МЕ/мл	IgA <12 МЕ/мл	Нет признаков недавнего контакта с B. pertussis
IgG < 50 МЕ/мл	IgA≥ 12 МЕ/мл	Нет признаков недавнего контакта с B. pertussis*
IgG 50- 120 МЕ/мл	IgA <12 МЕ/мл	Нет признаков недавнего контакта с B. pertussis*
IgG 50- 120 МЕ/мл	IgA≥ 12 МЕ/мл	Признак недавнего контакта с B. pertussis
IgG> 120 МЕ/мл		Признак недавнего контакта с B. pertussis

* рекомендуется повторный анализ образца, если клинические подозрения все еще существуют

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		МЕ/мл	МЕ/мл	(%)
1	1:100	47,1	47,1	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	23,0	23,5	98
	1:400	12,2	11,8	104
	1:800	6,9	5,9	117
06/140	1:100	60,0	65,0	92
	1:200	33,6	32,5	103
	1:400	17,1	16,3	105
	1:800	9,3	8,1	115
06/142	1:100	17,0	18,0	94
	1:200	8,1	9,0	90
	1:400	4,4	4,5	98

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 2,9 МЕ/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	9,4	4,5
2	12,2	3,6
3	42,6	7,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	8,5	6,5
2	12,8	3,8
3	42,1	8,3

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 1,5 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
При Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae; а также острой инфекции ВЭБ интерференции не наблюдалось. Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами аутоантител, таких как ревматоидные факторы или антинуклеарные антитела.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 5 положительных результатов, эквивалентных 5%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		Сравнительный метод		
		Пол.	Отр.	
ORG 916A	Пол.	25	5	
Anti-B. pertussis Toxin IgA	Отр.	2	381	
		27	386	413

Чувствительность:	92.6%
Специфичность:	98.7%
Общая согласованность:	98.3%

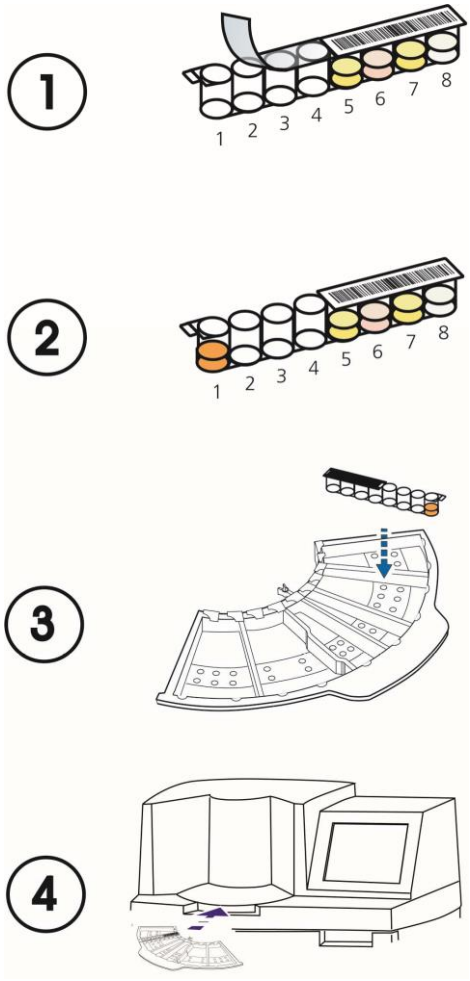
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Bamberger,E.S. and Srugo.l., What is new in pertussis? *Eur.J.Pediatr.* 2008. 167: 133-139.
2. Guiso,N., Bordetella pertussis and pertussis vaccines. *Cl in. In feet. Dis.* 2009. 49: 1565-1569.
3. Guiso,N., Berbers,G., Fry,N.K., He,Q., Riffelmann,M., and Wirsing von König,C.H., What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis: recommendations from EU reference laboratories. *Eur.J.Clin.Microbiol. Infect.Dis.* 2011.30: 307-312.
4. Mattoo,S. and Cherry,J.D., Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to Bordetella pertussis and other Bordetella subspecies. *Clin.Microbiol.Rev.* 2005. 18: 326-382.
5. Tozzi,A.E., Celentano,L.P., Ciofi degli Atti,M.L., and Salmaso,S., Diagnosis and management of pertussis. *CMAJ*. 2005. 172: 509-515.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 916A_IFU_EN_QM132286_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

916G_3

ORG 916G Anti-B. pertussis Toxin IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-B. pertussis Toxin IgG для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgG к токсину Bordetella pertussis методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Согласно рекомендациям Европейского консенсуса для референс-лабораторий по Bordetella pertussis, результаты, полученные с помощью тест-систем для опреределения антител класса IgA и IgG к токсину B. pertussis, могут подтвердить недавний контакт с этим патогеном.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
916G_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Нативный инактивированнй токсин pertussis наносится на рекационные лунки.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

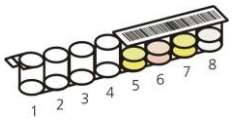
попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***B pert toxin IgG*** на печатной этикетке ***PerTox- G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °С.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Данная тест-система откалибрована по международному эталонному препарату ВОЗ (NIBSC код 06/140 и 06/142).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0– 400 МЕ/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 50 МЕ/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 50 МЕ/мл
Положительный результат	> 50 МЕ/мл

Европейский консенсус для референс-лабораторий предлагает двухступенчатое определение порогового значения [3]. Однако его можно использовать только в том случае, если пациент не был привит бесклеточной вакциной в течение последних 12 месяцев.

Антитела к токсину B. pertussis		**Интерпретация результатов**
IgG < 50 МЕ/мл	IgA <12 МЕ/мл	Нет признаков недавнего контакта с B. pertussis
IgG < 50 МЕ/мл	IgA≥ 12 МЕ/мл	Нет признаков недавнего контакта с B. pertussis*
IgG 50- 120 МЕ/мл	IgA <12 МЕ/мл	Нет признаков недавнего контакта с B. pertussis*
IgG 50- 120 МЕ/мл	IgA≥ 12 МЕ/мл	Признак недавнего контакта с B. pertussis
IgG> 120 МЕ/мл		Признак недавнего контакта с B. pertussis

* рекомендуется повторный анализ образца, если клинические подозрения все еще существуют

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		МЕ/мл	МЕ/мл	(%)
1	1:100	192,5	192,5	100
	1:200	97.9	96,3	102
	1:400	51,6	48,1	107
	1:800	27,1	24,1	113
06/ 140	1:100	116,6	106,0	110
	1:200	54,4	53,0	103
	1:400	25,9	26,5	98
	1:800	12,3	13,3	93
06/ 142	1:100	346,4	335,0	103
	1:200	167,5	167,5	100
	1:400	83,7	83,8	100
	1:800	40,7	41,9	97

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 1,0 МЕ/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	31,3	7,0
2	72,8	7,5
3	147,9	9,9

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	19,1	4,8
2	79,6	13,8
3	166,0	10,3

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
При Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae; а также острой инфекции ВЭБ интерференции не наблюдалось. Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 8 положительных результатов, эквивалентных 8%-ой серопревалентности.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

		Сравнительный метод Пол.	Отр.	
ORG 916G	Пол.	44	1	
Anti-B. pertussis Toxin IgG	Отр.	3	383	
		47	384	431

Чувствительность:	93.6%
Специфичность:	99.7%
Общая согласованность:	99.1%

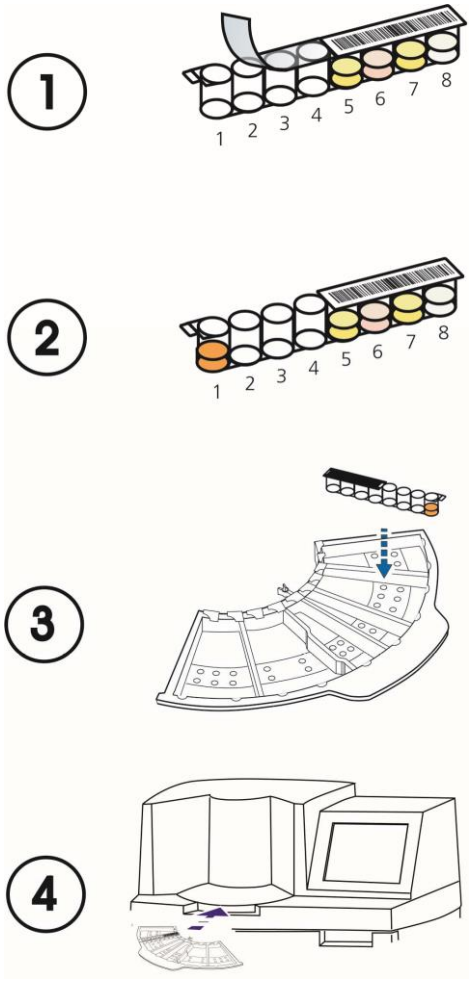
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Bamberger,E.S. and Srugo.l., What is new in pertussis? *Eur.J.Pediatr.* 2008. 167: 133-139.
2. Guiso,N., Bordetella pertussis and pertussis vaccines. *Cl in. In feet. Dis.* 2009. 49: 1565-1569.
3. Guiso,N., Berbers,G., Fry,N.K., He,Q., Riffelmann,M., and Wirsing von König,C.H., What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis: recommendations from EU reference laboratories. *Eur.J.Clin.Microbiol. Infect.Dis.* 2011.30: 307-312.
4. Mattoo,S. and Cherry,J.D., Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to Bordetella pertussis and other Bordetella subspecies. *Clin.Microbiol.Rev.* 2005. 18: 326-382.
5. Tozzi,A.E., Celentano,L.P., Ciofi degli Atti,M.L., and Salmaso,S., Diagnosis and management of pertussis. *CMAJ.* 2005. 172: 509-515.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 916G_IFU_EN_QM132287_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

911G_4

ORG 911G Anti-Borrelia IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Borrelia IgG для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgG к Borrelia burgdorferi sensu lato методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Анализ предназначен для выявления антител к основным причинам болезни Лайма в Азии, Европе и США и используется для подтверждения диагноза в случаях подозрения на инфицирование. На более поздних стадиях инфекции обнаружение антител, специфических для Borrelia, необходимо для подтверждения клинического подозрения на наличие болезни Лайма.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
911G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

СВОДНАЯ ИНФОРМАЦИЯ И ОПИСАНИЕ АНАЛИЗА

Borrelia burgdorferi sensu lato (s. l.) являются основным возбудителем болезни Лайма в Азии, Европе и США. В Европе присутствуют штаммы Borrelia burgdorferi sensu lato, включающие B. afzelii, B. garinii, B. burgdorferi sensu stricto, B. spielmanii, B. bavariensis, являющиеся патогенными видами.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Потенциально патогенными видами являются B. valaisiana и B. lusitaniae и B. burgdorferi sense stricto только для США.
Передача инфекции человеку осуществляется клещами рода Ixodes. Мигрирующая эритема - клинический симптом, проявляющийся в первую очередь, примерно в 60% случаев. Он возникает через несколько дней или недель после заражения; и может сопровождаться легкими гриппозными симптомами. Распространение возбудителя через кровоток или лимфатическую систему может сопровождаться рядом осложнений на более поздних стадиях заболевания, особенно нейроборрелиозом (около 20%) и артритом Лайма (около 10%). У пациентов до начала лечения заболевание может принять тяжелое течение, приводящее к стойкой хронической инфекции. С другой стороны, инфицирование B. burgdorferi может протекать без проявления каких-либо клинических симптомов. Диагностирование болезни Лайма должен быть основано на тщательной оценке истории болезни.
Определение антител также играет важную роль в данном процессе. Во многих случаях антитела на ранней стадии заболевания еще не обнаруживаются (мигрирующая эритема). На более поздних стадиях инфекции обнаружение антител, специфических для Borrelia, необходимо для подтверждения клинического подозрения на наличие болезни Лайма. Синтез интеракальных антител является убедительным для диагностики нейроборрелиоза. При артрите Лайма обнаруживаются чрезвычайно высокие титры антител класса IgG, при этом антитела класса IgM отсутствуют полностью. Прогрессирование болезни Лайма можно предотвратить благодаря приему антибиотиков.

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантные антигены (VIsE, DbpA, OspC, p83/p100) B. burgdorferi s.s., B. afzelii и B. garinii. Высокой степени очистки связываются с реакционнми лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.

- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

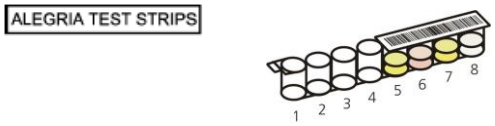
- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Borrel IgG*** на печатной этикетке ***Borr-G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

Руководство пользователя анализатора Alegria® Мини-DVD Alegria®

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °С.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °С до пяти дней или при температуре -20 °С до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °С).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

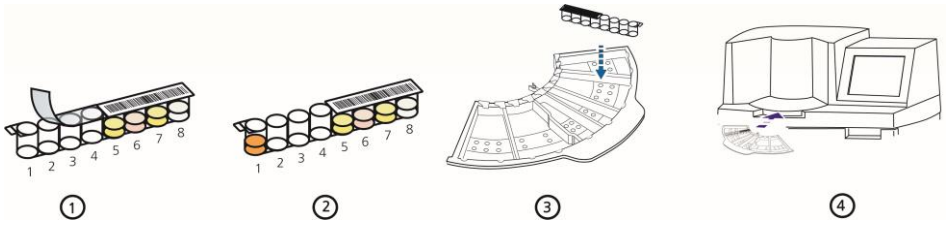
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед/мл.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	159,8	159,8	100
	1:200	80,9	79,9	101
	1:400	38,6	40,0	97
	1:800	19,7	20,0	99
2	1:100	115,9	115,9	100
	1:200	56,9	58,0	98
	1:400	26,5	29,0	92
	1:800	13,8	14,5	95
3	1:100	98,7	98,7	100
	1:200	54,0	49,4	109
	1:400	25.8	24,7	105
	1:800	13,5	12,3	110

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 4,5 ед/мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	6,1	5,4
2	24,2	6,3
3	155,0	5,4

Межаналитическая точность

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	8,8	5,7
2	25.8	6,4
3	150,7	5,4

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями *T. pallidum, Chlamydia sp., Yersinia sp.,*

паровирусом B19 или острой инфекцией ВЭБ. Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител.

Серопревалентность

Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 9 положительных результатов, эквивалентных 9%-ой серопревалентности

Результаты исследования

Сравнительное исследование

Для исследования 194 образца применялся сравнительный метод. Исследуемая популяция содержала образцы из двух клинических лабораторий. Результаты пороговых значений не валидированы.

При применении референсного метода 56 образцов оказались положительными. На основе референсного метода 51 из 56 образцов также оказались положительными при использовании тест-системы для определения антител класса IgG к Borrelia Alegria®, таким образом, чувствительность составила 91,1%.

При применении эталонной методики 138 образцов оказались отрицательными. На основе референсного метода 133 из 138 образцов также оказались отрицательными при использовании тест-системы для определения антител класса IgG к Borrelia Alegria®, таким образом, **Специфичность** составила 96,4%.

184 из 194 образцов продемонстрировали совпадение результатов, что составляет 94,8 %.

Кроме того, были проанализированы 10 образцов пациентов с инфекцией Borrelia, выявленной в клинических условиях. Они были должным образом проанализированы с использованием тест-системы ля определения антител класса IgG к Borrelia Alegria® (9 образцов положительные и 1 образец пограничный).

		Сравнительный метод		
		Пол.	Отр.	
ORG 911G	Пол.	51	5 *	
Anti-Borrelia IgG.	Отр.	5 °	133	
		56	138	194

]

Чувствительность:	91.1%
Специфичность:	96.4%
Общая согласованность:	94.8%

* Для двух образцов положительный результат был подтвержден вестерн-блоттингом

° для всех 5 результатов отрицательный результат был подтвержден вестерн-блоттингом

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Клиническое исследование
84 клинических образца были проанализированы с помощью анализатора Alegria.
Стадия 1: 21 образец сыворотки от пациентов с клиническим подозрением на 1 стадию боррелиоза Лайма после укуса клеща (11 случаев с мигрирующей эритемой)
Стадия 2: 20 образцов сыворотки крови пациентов с нейроборрелиозом (острая стадия и перенесенный ранее).
Стадия 3: 43 образца сыворотки крови пациентов с артритом

Образцы			Anti-Borrelia IgM				Anti-Borrelia IgG				IgM + IgG	
Заболевание	Клинические проявления	Количество	Положительные	Доля положит. рез-тов. (%)	Пороговое значение	Пороговое значение (%)	Положительные	Доля положит. рез-тов. (%)	Пороговое значение	Пороговое значение (%)	Реактивные*	Реактивные (%)
Стадия 1	Боррелиоз вследствие укуса клеща	21	15	71.4%	2	9.5%	10	47.6%	3	14.3%	18	85.7%
Стадия 2	Нейроборрелиоз	20	6	30,0%	3	15,0%	14	70,0%	1	5,0%	15**	75,0%
Стадия 3	Артрит	43	9	20,9%	1	2,3%	39	90,7%	4	9,3%	43	100,0 %

*Реактивные: пороговые или положительные значения
** ** 5 образцов, которые были отрицательными при серологическом анализе, показали положительную реакцию при исследовании СМЖ

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

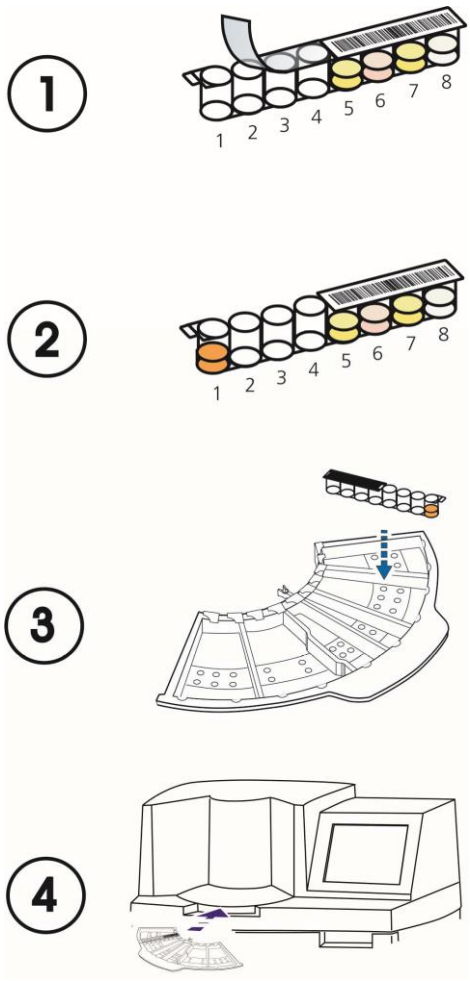
1. Ang CW, Notermans DW, Hommes M, Simoons-Smit AM, H erre ma ns T. Large differences between test strategies for the detection of anti-Borrelia antibodies are revealed by comparing eight ELISAs and five immunoblots. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2011; 30(8): 1027-32.
2. Bratton RL, Whiteside JW, Hovan MJ, Engle RL, Edwards FD. Diagnosis and treatment of Lyme disease. Mayo Clin Proc 2008; 83(5):566-71.
3. Nau R, Christen HJ, Eiffert H. Lyme disease-current state of knowledge. Dtsch Arztebl I nt 2009; 106(5):72-81.
4. Rizzoli A, Häufte H, Carpi G, Vo uro HG, Neteler M, Rosa R. Lyme borreliosis in Europe. Euro Surveill 2011; 16 (27):=19906.
5. Schulte-Spechtel U, Fingerle V, Goettner G, Rogge S, Wilske B. Molecular analysis of decorin-binding protein A (DbpA) reveals five major groups among European Borrelia burgdorferi sensu lato strains with impact for the development of serological assays and indicates lateral gene transfer of the dbpA gene. I nt J Med Microbiol 2006; 296 Suppl 40:250-66.
6. Wilske B, Fingerle V, Schulte-Spechtel U. Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. FEMS Immunol Med Microbiol 2007; 49(1):13-21.
7. Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klempner MS et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2006; 43(9):1089-134.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 911G_IFU_EN_QM122189_2017-08-30_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

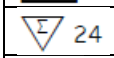
911MX_4

ORG 911MX Anti-Borrelia IgM Abs.

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Borrelia IgM (с абсорбентом) для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgM к Borrelia burgdorferi sensu lato методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения. В состав тест-системы Alegria® для определения антител класса IgM к Borrelia (с абсорбентом) входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ).
Анализ предназначен для выявления антител к основным причинам болезни Лайма в Азии, Европе и США и используется для подтверждения диагноза в случаях подозрения на инфицирование. На более поздних стадиях инфекции обнаружение антител, специфических для Borrelia, необходимо для подтверждения клинического подозрения на наличие болезни Лайма.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
911MX_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

СВОДНАЯ ИНФОРМАЦИЯ И ОПИСАНИЕ АНАЛИЗА

Borrelia burgdorferi sensu lato (s. l.) являются основным возбудителем болезни Лайма в Азии, Европе

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

и США. В Европе присутствуют штаммы Borrelia burgdorferi sensu lato, включающие B. afzelii, B. garinii, B. burgdorferi sensu stricto, B. spielmanii, B. bavariensis, являющиеся патогенными видами. Потенциально патогенными видами являются B. valaisiana и B. lusitaniae и B. burgdorferi sense stricto только для США.

Передача инфекции человеку осуществляется клещами рода Ixodes. Мигрирующая эритема - клинический симптом, проявляющийся в первую очередь, примерно в 60% случаев. Он возникает через несколько дней или недель после заражения; и может сопровождаться легкими гриппозными симптомами. Распространение возбудителя через кровоток или лимфатическую систему может сопровождаться рядом осложнений на более поздних стадиях заболевания, особенно нейроборрелиозом (около 20%) и артритом Лайма (около 10%). У пациентов до начала лечения заболевание может принять тяжелое течение, приводящее к стойкой хронической инфекции. С другой стороны, инфицирование B. burgdorferi может протекать без проявления каких-либо клинических симптомов. Диагностирование болезни Лайма должен быть основано на тщательной оценке истории болезни.

Определение антител также играет важную роль в данном процессе. Во многих случаях антитела на ранней стадии заболевания еще не обнаруживаются (мигрирующая эритема). На более поздних стадиях инфекции обнаружение антител, специфических для Borrelia, необходимо для подтверждения клинического подозрения на наличие болезни Лайма. Синтез интеракальных антител является убедительным для диагностики нейроборрелиоза. При артрите Лайма обнаруживаются чрезвычайно высокие титры антител класса IgG, при этом антитела класса IgM отсутствуют полностью. Прогрессирование болезни Лайма можно предотвратить благодаря приему антибиотиков.

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантные антигены (VIsE, OspC, Flagellin intern) B. burgdorferi s.s., B. afzelii и B. garinii. высокой степени очистки связываются с реакционными лунками.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

Ревматоидный фактор (РФ) может влиять на результат определения антител класса IgM в серологии инфекционных заболеваний. Этого можно избежать, используя абсорбент РФ. В состав тест-системы Alegria® входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ). Поглощение происходит во время обработки образцов в анализаторе Alegria®. Подготовка или

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

предварительное разведение образцов не требуется.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

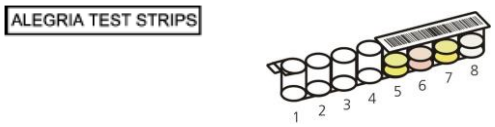
- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Borrel IgM Ab*** на печатной этикетке ***Borr-MX***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

Руководство пользователя анализатора Alegria® Мини-DVD Alegria®

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед/мл.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Не применимо. Данный анализ является нелинейным количественным определением, т.к. буфер образца содержит абсорбент РФ.

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 5,5 ед/мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	7,7	4,1
2	23,6	2,3
3	103,3	3,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	8,1	4,0
2	23,3	4,0
3	105,7	4,9

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями T. pallidum, Chlamydia sp., Yersinia sp. паровирусом B19 или острой инфекции вирусом Эйнштейна-Барр (ВЭБ). Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител.

В образцах, взятых у пациентов с острой инфекцией вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), была обнаружена более высокая серопревалентность, возможно, вызванная поликлональной стимуляцией В-лимфоцитов у этих пациентов. Помех, вызванных ревматоидными факторами,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

можно избежать за счет применения абсорбента РФ в буфере для разведения образцов в лунках тест-полосок Alegria®.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 3 положительных результатов, эквивалентных 3%-ой серопревалентности.

Результаты исследования
Сравнительное исследование
Для исследования 224 образца применялся сравнительный метод. Исследуемая популяция содержала образцы из двух клинических лабораторий. Результаты пороговых значений не валидированы.
При применении референсного метода 40 образцов оказались положительными. На основе референсного метода 32 из 40 образцов также оказались положительными при использовании тест-системы для определения антител класса IgM (с абсорбентом) к Borrelia Alegria®, таким образом, чувствительность составила 80,0%.
При применении эталонной методики 184 образцов оказались отрицательными. На основе референсного метода 181 из 184 образцов также оказались отрицательными при использовании тест-системы для определения антител класса IgM (с абсорбентом) к Borrelia Alegria®, таким образом, **Специфичность** составила 98,4%.
213 из 224 образцов продемонстрировали совпадение результатов, что составляет 95,1 %.
Кроме того, были проанализированы 10 образцов пациентов с инфекцией Borrelia, выявленной в клинических условиях. Девять из десяти образцов проанализированы надлежащим образом тестт-системой Anti-Borrelia IgM (с абсорбентом).

		Сравнительный метод		
		Пол.	Отр.	
ORG 911MX	Пол.	32	3 *	
Anti-Borrelia IgM Abs	Отр.	8 *	181	
		40	184	224

]

Чувствительность:	80.0%
Специфичность:	98.4%
Общая согласованность:	95.1%

* Для двух образцов положительный результат был подтвержден вестерн-блоттингом
° шесть образцов отрицательные, для двух образцов пороговые значения подтверждены вестерн-блоттингом

Клиническое исследование
84 клинических образца были проанализированы с помощью анализатора Alegria.
Стадия 1: 21 образец сыворотки от пациентов с клиническим подозрением на 1 стадию боррелиоза Лайма после укуса клеща (11 случаев с мигрирующей эритемой)
Стадия 2: 20 образцов сыворотки крови пациентов с нейроборрелиозом (острая стадия и перенесенный ранее).
Стадия 3: 43 образца сыворотки крови пациентов с артритом

Образцы	Anti-Borrelia IgM	Anti-Borrelia IgG	IgM + IgG

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Заболевание	Клинические проявления	Количество	Положительные	Доля положит. рез-тов. (%)	Пороговое значение	Пороговое значение (%)	Положительные	Доля положит. рез-тов. (%)	Пороговое значение	Пороговое значение (%)	Реактивные*	Реактивные (%)
Стадия 1	Боррелиоз вследствие укуса клеща	21	15	71.4%	2	9.5%	10	47.6%	3	14.3%	18	85.7%
Стадия 2	Нейроборрелиоз	20	6	30.0%	3	15.0%	14	70.0%	1	5.0%	15**	75.0%
Стадия 3	Артрит	43	9	20.9%	1	2.3%	39	90.7%	4	9.3%	43	100.0%

*Реактивные: пороговые или положительные значения

** ** 5 образцов, которые были отрицательными при серологическом анализе, показали положительную реакцию при исследовании СМЖ

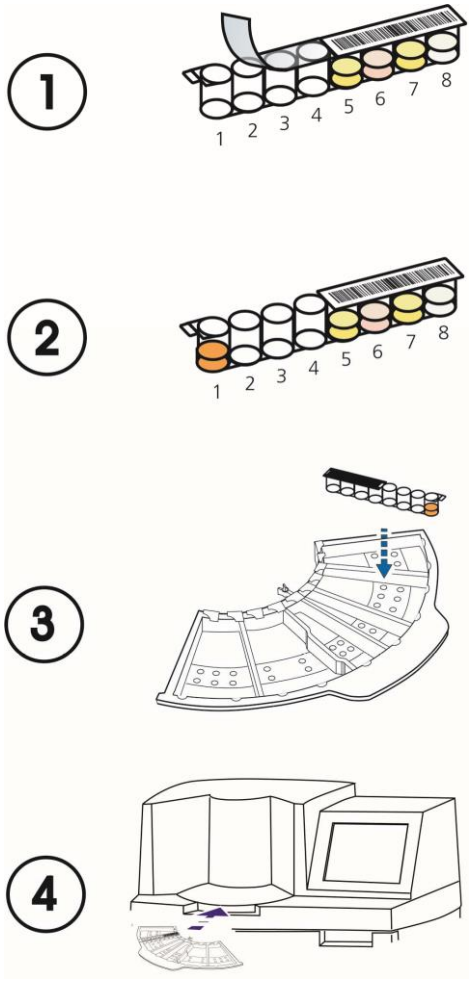
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Ang CW, Noter ma ns DW, Hommes M, Simoons-Smit AM, Herremans T. Large differences between test strategies for the detection of anti-Borrelia antibodies are revealed by comparing eight ELISAs and five immunoblots. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2011; 30(8): 1027-32.
2. Bratton RL, Whiteside JW, Hovan MJ, Engle RL, Edwards FD. Diagnosis and treatment of Lyme disease. Mayo Clin Proc 2008; 83(5):566-71.
3. Nau R, Christen HJ, Eiffert H. Lyme disease-current state of knowledge. Dtsch Arztebl I nt 2009; 106(5):72-81.
4. Rizzoli A, Hauffe H, Carpi G, Vourc HG, Neteler M, Rosa R. Lyme borreliosis in Europe. Euro Surveill 2011; 16 (27):pii= 19906.
5. Schulte-Spechtel U, Fingerle V, Goettner G, Rogge S, Wilske B. Molecular analysis of decorin-binding protein A (DbpA) reveals five major groups among European Borrelia burgdorferi sensu lato strains with impact for the development of serological assays and indicates lateral gene transfer of the dbpA gene. I nt J Med Microbiol 2006; 296 Suppl 40:250-66.
6. Wilske B, Fingerle V, Schulte-Spechtel U. Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. FEMS Immunol Med Microbiol 2007; 49(1):13-21.
7. Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klempner MS et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2006; 43(9):1089-134.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 911MX_IFU_EN_QM122190_2017-08-30_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

911GL_5

ORG 911GL Anti-Borrelia IgG Liquor

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Borrelia IgG Liquor для анализатора Alegria® предназначена для сравнительного количественного определения антител класса IgG к Borrelia burgdorferi sensu lato методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека, или спинномозговой жидкости. Данный количественный анализ предназначен для определения синтеза антител IgG в центральной нервной системе. Он не подходит для обнаружения антител класса IgG к Borrelia только в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Анализ используется для выявления синтеза интеракальных антител при подозрении на нейроборрелиоз.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
911GL_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Реакционные лунки покрыты рекомбинантными антигенами VIsE (вариабельный белок VMP), OspC

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(поверхностный белок C), p83 / pl 00 (хромосомно кодируемый высокомолекулярный белок) и DbpA (декорин-связывающий белок A) патогенных для человека видов Borrelia: B. burgdorferi sensu stricto, B. afzelii и B. Garinii высокой степени очистки.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

Образец спинномозговой жидкости и соответствующий образец сыворотки от одного и того же пациента должны быть исследованы в одной и той же серии испытаний. Для параллельного проведения обоих анализов необходимы две тест-полоски - одна для спинномозговой жидкости и одна для сыворотки.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

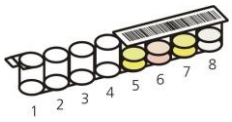
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Borrel SerCSF IgG*** на печатной этикетке ***Borr-L-G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

Руководство пользователя анализатора Alegria® Мини-DVD Alegria®

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетки на 10 мкл, пипетки с варьируемым объемом дозирования на 10-100 мкл и 100-1000 мкл
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы крови и спинномозговой жидкости должны быть отобраны у пациента в один и тот же день.
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Образцы должны быть чистыми и негемолизированными.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Избегайте повторного замораживания и размораживания образцов. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием образцов.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ
- Для проведения данного анализа образцы спинномозговой жидкости и сыворотки или плазмы крови должны иметь схожую концентрацию белка.
- Поскольку концентрация спинномозговой жидкости намного ниже, чем сыворотки или плазмы крови, необходимо предварительное разбавление образцов сыворотки.
- Для получения значений в пределах диапазона измерения предварительное разбавление образцов сыворотки/плазмы может быть различным для каждого параметра в зависимости от серопревалентности.

Образцы спинномозговой жидкости также могут быть предварительно разбавлены или использованы в меньшем объеме, если предполагается наличие высокой концентрации антител.

- Рекомендуется предварительно разбавить образец сыворотки или плазмы крови готовым к использованию буферным раствором для промывки.

Приготовление образцов зависит от панели образцов и может отличаться в разных лабораториях. Эмпирические значения для предварительного разведения (сыворотка/плазма) и объема (СМЖ)

Предварительное разведение	Сыворотка/плазма+Буферный раствор для промывки	СМЖ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORG 901 GL Тест-система для определения антител класса IgG к капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG905GL Тест-система для обнаружения антител класса IgG к вирусу простого герпеса I и II типа	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG 909GL Тест-система для определения антител класса IgG к вирусу кори	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG911GL Тест-система для определения антител класса IgG к Borrelia	1:4	20 мкл + 60 мкл	60 мкл
ORG 911 ML Тест-система для определения антител класса IgM к Borrelia	1:4	20 мкл + 60 мкл	60 мкл
ORG914GL Тест-система для определения антител класса IgG к вирусу ветряной оспы	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG919GL Тест-система для определения антител класса IgG к краснухе	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Используйте одну тест полоску Alegria® для СМЖ и одну для сыворотки. Различия в обработке:

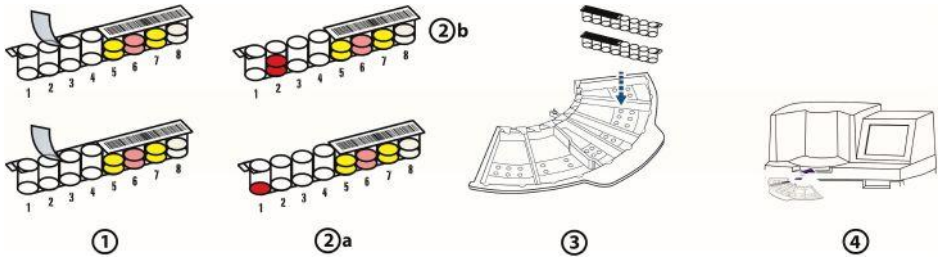
(2a) Тест-полоска для сыворотки: При помощи пипетки перенесите 10 мкл предварительно разбавленного образца сыворотки или плазмы на дно лунки 1.

(2b) Тест-полоска для спинномозговой жидкости: При помощи пипетки перенесите 30 мкл неразбавленной СМЖ на дно лунки 2.

(2) Установите полоску в системный лоток SysTray

(3) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 10-200 ед/мл.

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 10 ед/мл.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, образцы, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для промывки.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов сыворотки по результатам 20 определений за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов сыворотки по результатам 2 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	20,7	7,8
2	36,7	6,4
3	171,3	5,5

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	19,6	8,4
2	40,6	6,1
3	156,3	5,6

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов сыворотки/плазмы крови человека. Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина).

Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями Т.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

pallidum, Chlamydia sp., Yersinia sp. паровирусом B19 или острой инфекции вирусом Эйнштейна-Барр (ВЭБ).
Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ
С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет результатов выполняется автоматически.

РАСЧЕТ ИНДЕКСА АНТИТЕЛ (ИА)
Для расчета индекса антител требуется проведение анализа альбумина и общего IgG в сыворотке и в СМЖ альтернативными методами, которые не включены в настоящую тест-систему. Концентрацию общего IgG и альбумина следует измерять методами, которые обычно используются в лабораториях, исследующих неврологические заболевания.

Как правило, для определения концентрации антител в образцах достаточно использования неразбавленной СМЖ и предварительного разбавленного образца сыворотки в пропорции 1:4, как рекомендовалось ранее. Иногда результаты анализа могут превышать верхний предел диапазона измерений (> 200 Ед/мл) для отдельных образцов. Следует провести повторный анализ таких образцов с более высокими разведениями для правильного расчета концентрации антител. При использовании образцов СМЖ можно пипетировать меньшие объемы неразбавленной СМЖ в лунку 2 или провести предварительное разбавление готовым к использованию буферным раствором для промывки.
Возможные предварительные разведения и объемы пипетирования, а также полученные факторы разведения приведены в таблице разведения ниже:

образец	Предварительное разведение	Образец + Буферный раствор для промывки	Лунка 1: мкл	Лунка 2: мкл	Коэффициент разведения
Сыворотка	1:4	20 мкл + 60 мкл	10 мкл	—	381
Сыворотка	1:8	10 мкл + 70 мкл	10 мкл	—	762
Сыворотка	1:16	10 мкл + 150 мкл	10 мкл	—	1524
Сыворотка	1:32	10 мкл + 310 мкл	10 мкл	—	3048
Сыворотка	1:64	10 мкл + 630 мкл	10 мкл	—	6096
Сыворотка	1:128	10 мкл + 1270 мкл	10 мкл	—	12192
образец	Предварительное разведение	Образец + Буферный раствор для промывки	Лунка 1: мкл	Лунка 2: мкл	Коэффициент разведения
СМЖ	—	—	—	60 мкл	4
СМЖ	—	—	—	30 мкл	7
СМЖ	—	—	—	15 мкл	13
СМЖ	1:2	50 мкл + 50 мкл	—	60 мкл	8
СМЖ	1:4	20 мкл + 60 мкл	—	60 мкл	16
СМЖ	1:8	10 мкл + 70 мкл	—	60 мкл	32
СМЖ	1:16	10 мкл + 150 мкл	—	60 мкл	64
СМЖ	1:32	10 мкл + 310 мкл	—	60 мкл	128

Расчет индекса антител:
Расчет индекса антител (ИА) позволит получить информацию о синтезе интеракальных антител, специфических для ВПГ типа 1 и 2 (т.е. антител, вырабатываемых в СМЖ). Обычно индекс антител варьируется от 0,6 до 1,3 (см. интерпретация результатов).
Для расчета ИА в первую очередь необходимы концентрации антител класса IgG, специфических для ВПГ типа 1 и 2 в сыворотке и в спинномозговой жидкости (СМЖ) с поправкой на факторы разведения. С их помощью определяется специфическое соотношение IgG (QIgG Spec):

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

$Q_{IgG\ Spec}$ = ($IgG_{CSF\ spec}$) / ($IgG_{\ serum\ spec}$)
= (ЕД/мл $_{СМЖ}$ х фактор разведения) / (ЕД/мл $_{сыворотка}$ х фактор разведения)
= (ЕД/мл СМЖ х фактор разведения) / (ЕД/мл сыворотка х фактор разведения) см. таблицу с факторами разведения

См. таблицу с факторами разведения

Определение ИА: $Q_{IgG\ Spec}$ / $Q_{IgG\ (1)}$

(Q_{IgG} = ($IgG_{СМЖ}$)/ ($IgG_{\ сыворотка}$)) = соотношение общего IgG. Требуется отдельное измерение другими способами!

Клиническая поправка:

Соотношение ИА (1) учитывает изменения в барьерной функции ликвора и крови, но не учитывает большого локального синтеза полиспецифических IgG в ЦНС, что приводит к повышению $Q_{\ IgG}$ и к получению ложно низких значений ИА.

Поэтому для более надежной клинической диагностики различных неврологических заболеваний важно проводить различие между

a) инфекциями с моноспецифической интратекальной иммунной реакцией, которая указывает на антиген-возбудитель инфекции, и

b) заболеваниями, при которых антитела синтезируются как вторичная полиспецифическая иммунная реакция в результате неспецифической стимуляции 8-клеточных линий.

Во избежание таких ложноотрицательных результатов при стандартном расчете ИА (1), H.Reiber предложил использовать пороговую функцию (полученную на основе эмпирических клинических данных), которая должна использоваться для скорректированного расчета ИА(с дополнительным требованием измерения альбумина: $Q_{A,b}$ = [$Alb_{СМЖ}$] / [$Alb_{сыворотка}$]):

$$Q_{lim}\ (IgG) = 0.93 \times \sqrt{(Q_{Alb})^2 + 6 \times 10^{-6}} - 1.7 \times 10^{-3}$$

В зависимости от этого порога расчет ИА имеет различие между двумя случаями:

ИА = $Q_{IgG\ Spec}$ / Q_{IgG} (если $Q_{IgG} < Q_{LIM\ (IgG)}$)) (моноспецифичная иммунная реакция) (2)

ИА = $Q_{IgG\ Spec}$ / $Q_{LIM\ (IgG)}$ (если $Q_{IgG} > Q_{LIM\ (IgG)}$)) (полиспецифичная иммунная реакция) (3)

Уравнение 2 используется в том случае, если Q_{IgG} обозначает барьерные условия, относящиеся к преимущественно полученной из крови белковой фракции в СМЖ без значительного локального полиспецифического синтеза IgG в ЦНС, , т.е. если $Q_{IgG} < Q_{LIM\ (IgG)}$

Уравнение 3 используется, если $Q_{IgG} > Q_{LIM\ (IgG)}$

Для упрощения вычислений можно использовать таблицу на компьютере. Компания «ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» подготовила такую таблицу в Excel и по запросу предоставляет ее заинтересованным клиентам, проводящим анализы Alegria® с использованием ликвора.

Интерпретация результатов

0.6 < ИА < 1.3 - нормальный диапазон

1.3 < ИА < 1.5 - неопределенный результат

ИА > 1.5 интратекальный синтез антител, специфических для ВПГ 1 и 2 типа

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Кроме того, решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Для образцов сыворотки крови или СМЖ со значениями ниже нижней границы диапазона измерений (зафиксированный результат теста <10 Ед/мл), индекс антител не может быть рассчитан. В зависимости от совокупности результатов (например, повышенные значения антител в СМЖ) можно рассмотреть возможность проведения повторного анализа с более низким разведением образца сыворотки крови человека. Значения ИА <0.6 свидетельствуют об ошибке метода. Все промежуточные результаты должны быть проверены на достоверность.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Приведенные выше референсные диапазоны соответствуют положениям Х. Райбера и должны рассматриваться только как рекомендации. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.
Результат ИА в пределах нормы не исключает наличие инфекции. Если образец взят на ранней стадии заболевания, индекс антител может находиться в пределах нормы. Повышенный ИА не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания. Высокие значения ИА могут сохраняться в течение многих лет после перенесенной инфекции.

Результаты исследования

			Результаты, полученные при использовании анализатора ALEGRIA						
Образец			A	B	C	D	E	F	G
Номер образца	Клинический диагноз	Результат IgG, сравнительный метод	ИА невозможно рассчитать (образец <10 ед/мл)	ИА < 1,3	ИА 1,3-1,5	ИА > 1,5	A + B	C+ D	ИА (IgM)
n = 7	Подозрение на нейроборрелиоз (острая инфекция)	6х ИА > 1,5 1х ИА 1,3-1,5			1 (14.3%)	6 (85.7%)		7 (100%)	5х ИА > 1,5 1 х ИА 1,3-1,5 1 х н/д
n =10	Синтез интратекальных IgX (перенесенная ранее инфекция)	10х ИА > 1,5		1* (10,0%)		9 (90,0%)	1* (10.0%)	9 (90.0%)	
n =43 (IgM n =39)	Прочие состояния	1Х ИА > 1,5 42х ИА< 1,3	13 (30.3%)	29 (67.4%)		1 (2,3%)	42 (97.7%)	1 (2,3%)	1Х ИА< 1,3 Образец х 38 < 10 ед/мл.

Для каждого представленного случая образцы сыворотки и СМЖ от каждого пациента исследовались параллельно.
Исследовано 17 случаев боррелиоза (7 случаев острого нейроборрелиоза 1 стадии и 10 случаев ранее перенесенного боррелиоза 2 стадии). 1 случай был сомнительным и не был принят во внимание.
В 15 из 16 случаев индекс антител ИА>1,5 указывал на синтез интратекальных антител, специфических для Borrelia, Таким образом, клиническая чувствительность составляет 93.8%.
Из 43 случаев неврологических заболеваний индекс антител составлял < 1,5, что указывает на отсутствие синтеза интратекальных антител, специфических для Borrelia, Таким образом, чувствительность составляет 97.7%.

		Клинический диагноз		
		Боррелиоз	Прочие	
ORG 911GL	ИА > 1,5	15	1	
.	ИА < 1,5	1	42	
		16	43	59

]

Чувствительность:	93.8%
Специфичность:	97.7%
Общая согласованность:	96.6%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Reiber H. External quality assessment in clinical neurochemistry: survey of analysis for cerebrospinal fluid (CSF) proteins based on CSF/serum quotients. *Clin Chem* 1995 41: 256-263.

   Reiber H. Die diagnostische Bedeutung neuroimmunologischer Reaktionsmuster im Liquor cerebrospinalis. *Lab Med* 1995 19: 444-462
2. Reiber H. and Peter J.B. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol.Sci* 2001. 164: 101-122.
3. Mygland A. et al. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. *EurJ Neurol.* 2010. 17:8-4.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. Huppertz H.l. et al. Rational diagnostic strategies for Lyme borreliosis in children and adolescents: recommendations by the Committee for Infectious Diseases and Vaccinations of the German Academy for Pediatrics and Adolescent Health. *EurJ Pediatr*2012. 171: 1619-1624.
5. Djukic M. et al. Cerebrospinal fluid findings in adults with acute Lyme neuroborreliosis. *J Neurol.* 2012. 259: 630 -636.

Для получения дополнительной информации о Borrelia в целом см. также инструкции к нашим тест-системам Alegria Anti-Borrelia IgG и IgM для определения антител в образцах сыворотки крови (ORG 911G и ORG 911MX).

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 911GL_IFU_EN_QM 141375_2016-03-10_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

911ML_5

ORG 911ML Anti-Borrelia IgM Liquor

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Borrelia IgM Liquor для анализатора Alegria® предназначена для сравнительного количественного определения антител класса IgM к Borrelia burgdorferi sensu lato методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека, или спинномозговой жидкости. Данный количественный анализ предназначен для определения синтеза антител IgM в центральной нервной системе. Он не подходит для обнаружения антител класса IgM к Borrelia только в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Анализ используется для выявления синтеза интеракальных антител при подозрении на нейроборрелиоз.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
911ML_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Реакционные лунки покрыты рекомбинантными антигенами VIsE (вариабельный белок VMP), OspC

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(поверхностный белок С), p83 / pl 00 (хромосомно кодируемый высокомолекулярный белок) и DbpA (декорин-связывающий белок А) патогенных для человека видов Borrelia: B. burgdorferi sensu stricto, B. afzelii и B. Garinii высокой степени очистки.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

Образец спинномозговой жидкости и соответствующий образец сыворотки от одного и того же пациента должны быть исследованы в одной и той же серии испытаний. Для параллельного проведения обоих анализов необходимы две тест-полоски - одна для спинномозговой жидкости и одна для сыворотки.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

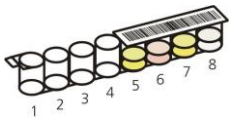
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Borrel SerCSF IgM*** на печатной этикетке ***Borr-L- M***

WASH 1 х 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

Руководство пользователя анализатора Alegria® Мини-DVD Alegria®

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетки на 10 мкл, пипетки с варьируемым объемом дозирования на 10-100 мкл и 100-1000 мкл
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы крови и спинномозговой жидкости должны быть отобраны у пациента в один и тот же день.
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Образцы должны быть чистыми и негемолизированными.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Избегайте повторного замораживания и размораживания образцов. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием образцов.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Для проведения данного анализа образцы спинномозговой жидкости и сыворотки или плазмы крови должны иметь схожую концентрацию белка.
- Поскольку концентрация спинномозговой жидкости намного ниже, чем сыворотки или плазмы крови, необходимо предварительное разбавление образцов сыворотки.
- Для получения значений в пределах диапазона измерения предварительное разбавление образцов сыворотки/плазмы может быть различным для каждого параметра в зависимости от серопревалентности.

Образцы спинномозговой жидкости также могут быть предварительно разбавлены или использованы в меньшем объеме, если предполагается наличие высокой концентрации антител.

- Рекомендуется предварительно разбавить образец сыворотки или плазмы крови готовым к использованию буферным раствором для промывки.

Приготовление образцов зависит от панели образцов и может отличаться в разных лабораториях. Эмпирические значения для предварительного разведения (сыворотка/плазма) и объема (СМЖ)

Предварительное разведение	Сыворотка/плазма+Буферный раствор для промывки	СМЖ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORG 901 GL Тест-система для определения антител класса IgG к капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG905GL Тест-система для обнаружения антител класса IgG к вирусу простого герпеса I и II типа	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG 909GL Тест-система для определения антител класса IgG к вирусу кори	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG911GL Тест-система для определения антител класса IgG к Borrelia	1:4	20 мкл + 60 мкл	60 мкл
ORG 911 ML Тест-система для определения антител класса IgM к Borrelia	1:4	20 мкл + 60 мкл	60 мкл
ORG914GL Тест-система для определения антител класса IgG к вирусу ветряной оспы	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG919GL Тест-система для определения антител класса IgG к краснухе	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Используйте одну тест полоску Alegria® для СМЖ и одну для сыворотки. Различия в обработке:

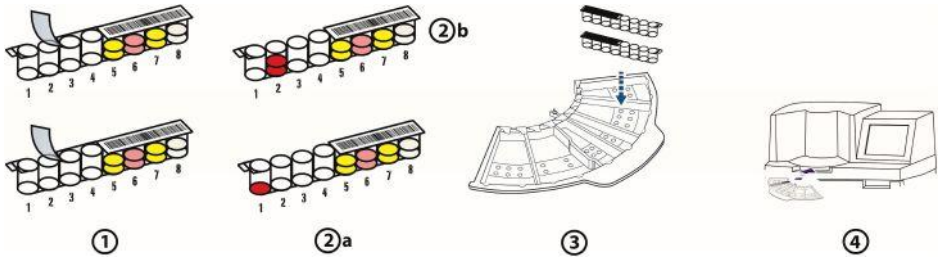
(2a) Тест-полоска для сыворотки: При помощи пипетки перенесите 10 мкл предварительно разбавленного образца сыворотки или плазмы на дно лунки 1.

(2b) Тест-полоска для спинномозговой жидкости: При помощи пипетки перенесите 60 мкл неразбавленной СМЖ на дно лунки 2.

(2) Установите полоску в системный лоток SysTray

(3) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 10-200 ед/мл.

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 10 ед/мл.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, образцы, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для промывки.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов сыворотки по результатам 20 определений за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов сыворотки по результатам 2 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	32,7	6,8
2	58,8	8,2
3	184,6	4,7

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	29,5	6,5
2	50.0	10,2
3	182,4	5,7

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов сыворотки/плазмы крови человека. Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина).

Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями Т.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

pallidum, Chlamydia sp., Yersinia sp. паровирусом B19 или острой инфекции вирусом Эйнштейна-Барр (ВЭБ). Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител.
В образцах, взятых у пациентов с острой инфекцией вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), была обнаружена более высокая серопревалентность, возможно, вызванная поликлональной стимуляцией В-лимфоцитов у этих пациентов.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ
С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет результатов выполняется автоматически.

РАСЧЕТ ИНДЕКСА АНТИТЕЛ (ИА)
Для расчета индекса антител требуется проведение анализа альбумина и общего IgG в сыворотке и в СМЖ альтернативными методами, которые не включены в настоящую тест-систему. Концентрацию общего IgG и альбумина следует измерять методами, которые обычно используются в лабораториях, исследующих неврологические заболевания.

Как правило, для определения концентрации антител в образцах достаточно использования неразбавленной СМЖ и предварительного разбавленного образца сыворотки в пропорции 1:4, как рекомендовалось ранее. Иногда результаты анализа могут превышать верхний предел диапазона измерений (> 200 Ед/мл) для отдельных образцов. Следует провести повторный анализ таких образцов с более высокими разведениями для правильного расчета концентрации антител. При использовании образцов СМЖ можно пипетировать меньшие объемы неразбавленной СМЖ в лунку 2 или провести предварительное разбавление готовым к использованию буферным раствором для промывки.
Возможные предварительные разведения и объемы пипетирования, а также полученные факторы разведения приведены в таблице разведения ниже:

образец	Предварительное	Образец + Буферный раствор для промывки	Лунка 1: мкл	Лунка 2: мкл	Коэффициент разведения
Сыворотк	1:4	20 мкл + 60 мкл	10 мкл	—	381
Сыворотк	1:8	10 мкл + 70 мкл	10 мкл	—	762
Сыворотк	1:16	10 мкл + 150 мкл	10 мкл	—	1524
Сыворотк	1:32	10 мкл + 310 мкл	10 мкл	—	3048
Сыворотк	1:64	10 мкл + 630 мкл	10 мкл	—	6096
Сыворотк	1:128	10 мкл + 1270 мкл	10 мкл	—	12192
образец	Предварительное	Образец + Буферный раствор для промывки	Лунка 1: мкл	Лунка 2: мкл	Коэффициент разведения
СМЖ	—	—	—	60 мкл	4
СМЖ	—	—	—	30 мкл	7
СМЖ	—	—	—	15 мкл	13
СМЖ	1:2	50 мкл + 50 мкл	—	60 мкл	8
СМЖ	1:4	20 мкл + 60 мкл	—	60 мкл	16
СМЖ	1:8	10 мкл + 70 мкл	—	60 мкл	32
СМЖ	1:16	10 мкл + 150 мкл	—	60 мкл	64
СМЖ	1:32	10 мкл + 310 мкл	—	60 мкл	128

Расчет индекса антител:
Расчет индекса антител (ИА) позволит получить информацию о синтезе интеракальных антител, специфических для ВПГ типа 1 и 2 (т.е. антител, вырабатываемых в СМЖ). Обычно индекс антител варьируется от 0,6 до 1,3 (см. интерпретация результатов).
Для расчета ИА в первую очередь необходимы концентрации антител класса IgG, специфических

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

для ВПГ типа 1 и 2 в сыворотке и в спинномозговой жидкости (СМЖ) с поправкой на факторы разведения. С их помощью определяется специфическое соотношение IgG (QIgG Spec):

$Q_{IgG\ Spec} = (IgG_{CSF\ spec}) / (IgG_{\ serum\ spec})$
= (ЕД/мл $_{СМЖ}$ x фактор разведения) / (ЕД/мл $_{сыворотка}$ x фактор разведения)
= (ЕД/мл СМЖ x фактор разведения) / (ЕД/мл сыворотка x фактор разведения) см. таблицу с факторами разведения
См. таблицу с факторами разведения
Определение ИА: $Q_{IgG\ Spec} / Q_{IgG\ (1)}$
($Q_{IgG} = (IgG_{СМЖ})/ (IgG_{\ сыворотка})$) = соотношение общего IgG. Требуется отдельное измерение другими способами!

Клиническая поправка:
Соотношение ИА (1) учитывает изменения в барьерной функции ликвора и крови, но не учитывает большого локального синтеза полиспецифических IgG в ЦНС, что приводит к повышению $Q_{\ lgG}$ и к получению ложно низких значений ИА.
Поэтому для более надежной клинической диагностики различных неврологических заболеваний важно проводить различие между

a) инфекциями с моноспецифической интратекальной иммунной реакцией, которая указывает на антиген-возбудитель инфекции, и

b) заболеваниями, при которых антитела синтезируются как вторичная полиспецифическая иммунная реакция в результате неспецифической стимуляции 8-клеточных линий.

Во избежание таких ложноотрицательных результатов при стандартном расчете ИА (1), H.Reiber предложил использовать пороговую функцию (полученную на основе эмпирических клинических данных), которая должна использоваться для скорректированного расчета ИА(с дополнительным требованием измерения альбумина: $Q_{A,b} = [Alb_{СМЖ}] / [Alb_{сыворотка}]$):

$$Q_{lim}\ (IgG) = 0.93 \times \sqrt{(Q_{Alb})^2 + 6 \times 10^{-6}} - 1.7 \times 10^{-3}$$

В зависимости от этого порога расчет ИА имеет различие между двумя случаями:
$ИА = Q_{IgG\ Spec} / Q_{IgG}$ (если $Q_{IgG} < Q_{LIM\ (IgG)}$)) (моноспецифичная иммунная реакция) (2)
$ИА = Q_{IgG\ Spec} / Q_{LIM\ (IgG)}$ (если $Q_{IgG} > Q_{LIM\ (IgG)}$)) (полиспецифичная иммунная реакция) (3)

Уравнение 2 используется в том случае, если Q_{IgG} обозначает барьерные условия, относящиеся к преимущественно полученной из крови белковой фракции в СМЖ без значительного локального полиспецифического синтеза IgG в ЦНС, , т.е. если $Q_{IgG} < Q_{LIM\ (IgG)}$
Уравнение 3 используется, если $Q_{IgG} > Q_{LIM\ (IgG)}$

Для упрощения вычислений можно использовать таблицу на компьютере. Компания «ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» подготовила такую таблицу в Excel и по запросу предоставляет ее заинтересованным клиентам, проводящим анализы Alegria® с использованием ликвора.

Интерпретация результатов
0.6 < ИА < 1.3 - нормальный диапазон
1.3 < ИА < 1.5 - неопределенный результат
ИА > 1.5 интратекальный синтез антител, специфических для ВПГ 1 и 2 типа

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ
Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Кроме того, решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Для образцов сыворотки крови или СМЖ со значениями ниже нижней границы диапазона измерений (зафиксированный результат теста <10 Ед/мл), индекс антител не может быть рассчитан. В зависимости от совокупности результатов (например, повышенные значения антител

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

в СМЖ) можно рассмотреть возможность проведения повторного анализа с более низким разведением образца сыворотки крови человека. Значения ИА <0.6 свидетельствуют об ошибке метода. Все промежуточные результаты должны быть проверены на достоверность.
Приведенные выше референсные диапазоны соответствуют положениям Х. Райбера и должны рассматриваться только как рекомендации. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.
Результат ИА в пределах нормы не исключает наличие инфекции. Если образец взят на ранней стадии заболевания, индекс антител может находиться в пределах нормы. Повышенный ИА не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания. Высокие значения ИА могут сохраняться в течение многих лет после перенесенной инфекции.

Результаты исследования

			Результаты, полученные при использовании анализатора ALEGRIA						
Образец			A	B	C	D	E	F	G
Номер образца	Клинический диагноз	Результат IgG, сравнительный метод	ИА невозможно рассчитать (образец <10 ед/мл)	ИА < 1,3	ИА 1,3-1,5	ИА > 1,5	A + B	C+ D	ИА (IgM)
n = 7	Подозрение на нейроборрелиоз (острая инфекция)	6х ИА > 1,5 1х ИА 1,3-1,5			1 (14,3%)	6 (85,7%)		7 (100%)	5х ИА > 1,5 1 х ИА 1,3-1,5 1 х н/д
n =10	Синтез интеракальных IgX (перенесенная ранее инфекция)	10х ИА > 1,5		1* (10,0%)		9 (90,0%)	1* (10.0%)	9 (90.0%)	
n =43 (IgM n =39)	Прочие состояния	1Х ИА > 1,5 42х ИА< 1,3	13 (30.3%)	29 (67.4%)		1 (2,3%)	42 (97.7%)	1 (2,3%)	1Х ИА< 1,3 Образец х 38 < 10 ед/мл.

Для каждого представленного случая образцы сыворотки и СМЖ от каждого пациента исследовались параллельно.
Исследовано 17 случаев боррелиоза (7 случаев острого нейроборрелиоза 1 стадии и 10 случаев ранее перенесенного боррелиоза 2 стадии). 1 случай был сомнительным и не был принят во внимание.
В 15 из 16 случаев индекс антител ИА>1,5 указывал на синтез интратекальных антител, специфических для Borrelia, Таким образом, клиническая чувствительность составляет 93.8%.
Из 43 случаев неврологических заболеваний индекс антител составлял < 1,5, что указывает на отсутствие синтеза интратекальных антител, специфических для Borrelia, Таким образом, чувствительность составляет 97.7%.

		Клинический диагноз	
		Нейроборрелиоз	Прочие
ORG 911ML	ИА > 1,5	5	0
.	ИА < 1,5	0	39
		5	39

44

]

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	100.0%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Reiber H. External quality assessment in clinical neurochemistry: survey of analysis for cerebrospinal fluid (CSF) proteins based on CSF/serum quotients. *Clin Chem* 1995 41: 256-263.

Reiber H. Die diagnostische Bedeutung neuroimmunologischer Reaktionsmuster im Liquor cerebrospinalis. *Lab Med* 1995 19: 444-462

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2. Reiber H. and Peter J.B. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol.Sci* 2001. 164: 101-122.
3. Mygland A. et al. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. *EurJ Neurol.* 2010. 17:8-4.
4. Huppertz H.l. et al. Rational diagnostic strategies for Lyme borreliosis in children and adolescents: recommendations by the Committee for Infectious Diseases and Vaccinations of the German Academy for Pediatrics and Adolescent Health. *EurJ Pediatr*2012. 171: 1619-1624.
5. Djukic M. et al. Cerebrospinal fluid findings in adults with acute Lyme neuroborreliosis. *J Neurol.* 2012. 259: 630 -636.

Для получения дополнительной информации о Borrelia в целом см. также инструкции к нашим тест-системам Alegria Anti-Borrelia IgG и IgM для определения антител в образцах сыворотки крови (ORG 911G и ORG 911MX).

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 911 ML_IFU_EN_QM141376_2017-08-30_4*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

906A_4

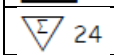
ORG 906A Anti-Chlamydia trachomatis IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti- Chlamydia trachomatis IgA предназначена для количественного определения антител класса IgA к бактериям Chlamydia trachomatis методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

После первичной инфекции антитела IgM, IgA и IgG могут последовательно обнаруживаться в образцах сыворотки. Антитела IgG обычно рассматриваются как маркеры любого контакта с патогеном независимо от стадии заболевания. Через несколько лет после заражения они могут снова исчезнуть. Антитела IgM являются характеристиками острой инфекции бактериями Chlamydia, и антитела IgA указывают на продолжающееся прогрессирование хронической инфекции.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
906A_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Антигены к C. Trachomatis (MOMP, TARP и CPAF) связаны с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

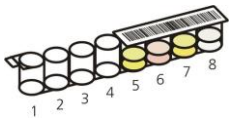
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Chlamy tracho IgA** на печатной этикетке **Ctrac-A**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Калибровка анализа осуществляется в относительных лабораторных единицах. Это объясняется отсутствием международных эталонных препаратов антител IgA к Chlamydia trachomatis.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	155,6	155,6	100
	1:200	85,7	81,0	106
	1:400	41,5	41,0	102
	1:800	19,5	20,0	96
2	1:100	97,5	97,5	100
	1:200	45,8	44,0	103
	1:400	19,8	22,0	90
	1:800	10,7	11,0	97

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3	1:100	76,1	76,1	100
	1:200	30,9	33,0	94
	1:400	14,4	16,0	87
	1:800	8,6	8,0	104

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 1,8 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	10,1	6,8
2	31,9	3,7
3	71,0	3,6

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	8,1	6,7
2	34,2	7,1
3	72,0	2,5

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями C. pneumoniae, Borrelia sp., Yersinia sp., паровирусом B19, ВПГ-2 или острой инфекции вирусом Эйнштейна-Барр (ВЭБ). Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами аутоантител, таких как ревматоидные факторы или антинуклеарные антитела.

Серопревалентность

Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 3 положительных результатов, эквивалентных 3%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 906A	Пол.	17	3	
	Отр.	2	511	
		19	514	533

Чувствительность:	89.5%
Специфичность:	99.4%
Общая согласованность:	99.1%

*Для 5/16 образцов положительный результат был подтвержден посредством микроиммунофлуоресцентного анализа
Для 13/16 образцов положительный результат был подтвержден вестерн-блоттингом
°Для 2/2 образцов положительный результат был подтвержден посредством микроиммунофлуоресцентного анализа и вестерн-блоттингом.

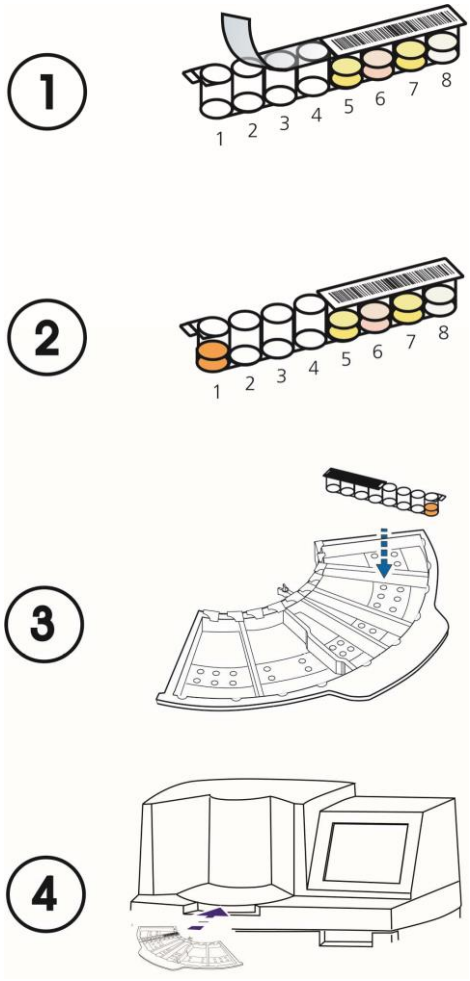
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Gottlieb, S.L. et al., Summary: The Natural History and Immunobiology of Chlamydia trachomatis Genital Infection and Implications for Chlamydia Control, 2010, J Infect Dis 201 (Suppl 2):190-204
2. Bas, S. et al., Importance of species-specific antigens in the serodiagnosis of Chlamydia trachomatis reactive arthritis, 2002, Rheumatology 41:1017-1020
3. Klein, M. et al., Detection of Chlamydia pneumoniae-Specific Antibodies Binding to the VD2 and VD3 Regions of the Major Outer Membrane Protein, 2003, J Clin Microbiol 41(5), 1957-1962
4. Närvänen, A. et al., Detection of Antibodies to Chlamydia trachomatis With Peptide-Based Species-Specific Enzyme Immunoassay, 1997, Infect Dis Obstet Gynecol. 5(5):349-354
5. Sharma, J. et al., Human Antibody Responses to a Chlamydia-Secreted Protease Factor, 2004, Infect Immun 72 (12):7164-7171
6. Murthy, A.K. et al., Chlamydial Protease-Like Activity Factor- Insights into Immunity and Vaccine Development, 2009, J Reprod Immunol 83(1-2):179-184
7. Wang, J. et al. A chlamydial type Ill-secreted effector protein (Tarp) is predominantly recognized by antibodies from humans infected with Chlamydia trachomatis and induces protective immunity against upper genital tract pathologies in mice. Vaccine 27(22):2967-80.
8. Forsbach-Birk, V. et al., Identification and evaluation of a combination of chlamydial antigens to support the diagnosis of severe and invasive Chlamydia trachomatis infections, 2010, Clin Microbiol Infect 16:1237-1244.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 906A_IFU_EN_QM113235_2014-06-26_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

906G_4

ORG 906G Anti-Chlamydia trachomatis IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti- Chlamydia trachomatis IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к бактериям Chlamydia trachomatis методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

После первичной инфекции антитела IgM, IgA и IgG могут последовательно обнаруживаться в образцах сыворотки. Антитела IgG обычно рассматриваются как маркеры любого контакта с патогеном независимо от стадии заболевания. Через несколько лет после заражения они могут снова исчезнуть. Антитела IgM являются характеристиками острой инфекции бактериями Chlamydia, и антитела IgA указывают на продолжающееся прогрессирование хронической.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
906G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Антигены к C. Trachomatis (MOMP, TARP и CPAF) связаны с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

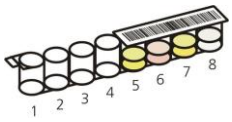
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Chlamy tracho IgG** на печатной этикетке **Ctrac- G**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.
Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.
Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КАЛИБРОВКА

Калибровка анализа осуществляется в относительных лабораторных единицах. Это объясняется отсутствием международных эталонных препаратов антител IgG к Chlamydia trachomatis.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	158,7	158,7	100
	1:200	73,9	80,0	93
	1:400	40,9	40,0	103
	1:800	21,0	20,0	105
2	1:100	113,6	113,6	100
	1:200	53,2	59,0	90
	1:400	31,1	30,0	105
	1:800	16,3	15,0	110
3	1:100	69,9	69,9	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	37,7	40,0	94
	1:400	21,7	20,0	108
	1:800	11,1	10,0	111

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 3,9 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	8,3	2,4
2	27,8	5,4
3	87,3	4,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	9,5	5,6
2	29,4	3,7
3	197,9	4,1

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями C. pneumoniae, Borrelia sp., Yersinia sp., паровирусом B19, ВПГ-2 или острой инфекции вирусом Эйнштейна-Барр (ВЭБ).
Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами аутоантител, таких как ревматоидные факторы или антинуклеарные антитела.
В образцах, взятых у пациентов с острой инфекцией вирусом вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ), была обнаружена более низкая серопревалентность, возможно, вызванная более низким средним возрастом исследуемой популяции. В образцах, взятых у пациентов с инфекцией ВПГ-2 была обнаружена более высокая серопревалентность, возможно, вызванная сопутствующей инфекцией ВПГ-2 и C. trachomatis. Таким образом, перекрестная реактивность к ВЭБ и ВПГ-2 считается маловероятной.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 7 положительных результатов, эквивалентных 7%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 906G	Пол.	46	2	
	Отр.	0	482	
		46	484	530

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	99.6%
Общая согласованность:	99.6%

*Для 9/11 образцов положительный результат был подтвержден посредством микроиммунофлуоресцентного анализа
*Для 5/5 образцов отрицательный результат был подтвержден посредством микроиммунофлуоресцентного анализа.

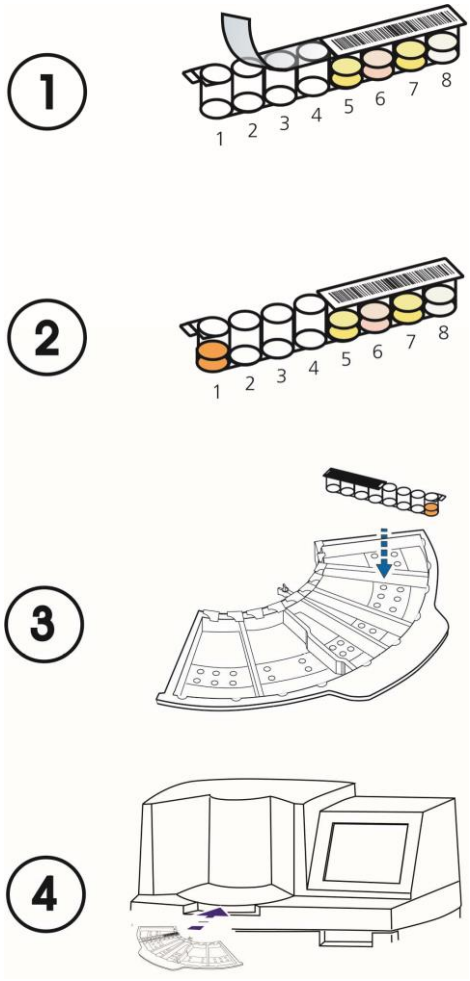
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Gottlieb, S.L. et al., Summary: The Natural History and Immunobiology of Chlamydia trachomatis Genital Infection and Implications for Chlamydia Control, 2010, J Infect Dis 201 (Suppl 2):190-204
2. Bas, S. et al., Importance of species-specific antigens in the serodiagnosis of Chlamydia trachomatis reactive arthritis, 2002, Rheumatology 41:1017-1020
3. Klein, M. et al., Detection of Chlamydia pneumoniae-Specific Antibodies Binding to the VD2 and VD3 Regions of the Major Outer Membrane Protein, 2003, J Clin Microbiol 41(5), 1957-1962
4. Närvänen, A. et al., Detection of Antibodies to Chlamydia trachomatis With Peptide-Based Species-Specific Enzyme Immunoassay, 1997, Infect Dis Obstet Gynecol. 5(5):349-354
5. Sharma, J. et al., Human Antibody Responses to a Chlamydia-Secreted Protease Factor, 2004, Infect Immun 72 (12):7164-7171
6. Murthy, A.K. et al., Chlamydial Protease-Like Activity Factor- Insights into Immunity and Vaccine Development, 2009, J Reprod Immunol 83(1-2):179-184
7. Wang, J. et al. A chlamydial type Ill-secreted effector protein (Tarp) is predominantly recognized by antibodies from humans infected with Chlamydia trachomatis and induces protective immunity against upper genital tract pathologies in mice. Vaccine 27(22):2967-80.
8. Forsbach-Birk, V. et al., Identification and evaluation of a combination of chlamydial antigens to support the diagnosis of severe and invasive Chlamydia trachomatis infections, 2010, Clin Microbiol Infect 16:1237-1244.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 906G_IFU_EN_QM113236_2014-06-26_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

906MX_4

ORG 906MX Anti-Chlamydia trachomatis IgM Abs.

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti- Chlamydia trachomatis IgM (с абсорбентом) предназначена для количественного определения антител класса IgM к бактериям Chlamydia trachomatis методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения. В состав тест-системы Alegria® для определения антител класса IgM к Chlamydia trachomatis (с абсорбентом) входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ).

После первичной инфекции антитела IgM, IgA и IgG могут последовательно обнаруживаться в образцах сыворотки. Антитела IgG обычно рассматриваются как маркеры любого контакта с патогеном независимо от стадии заболевания. Через несколько лет после заражения они могут снова исчезнуть. Антитела IgM являются характеристиками острой инфекции бактериями Chlamydia, и антитела IgA указывают на продолжающееся прогрессирование хронической.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
906MX_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Антигены к C. Trachomatis (MOMP, TARP и CPAF) связаны с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.
Ревматоидный фактор (РФ) может влиять на результат определения антител класса IgM в серологии инфекционных заболеваний. Этого можно избежать, используя абсорбент РФ. В состав тест-системы Alegria® входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ). Поглощение происходит во время обработки образцов в анализаторе Alegria®. Подготовка или предварительное разведение образцов не требуется.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

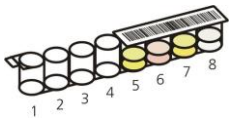
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Chlamy tracho IgM Ab** на печатной этикетке **Ctrac- MX**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

хранения и использования.

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Калибровка анализа осуществляется в относительных лабораторных единицах. Это объясняется отсутствием международных эталонных препаратов антител IgM к Chlamydia trachomatis.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Не применимо. Данный анализ является нелинейным количественным определением, т.к. буфер образца содержит абсорбент РФ.

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 2,2 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	5,0	10,5
2	29,4	3,0
3	156,2	4,9

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	4,2	10,7
2	30,1	2,7
3	177,5	4,6

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями C. pneumoniae, Borrelia sp., Yersinia sp., паровирусом B19, ВПГ-2 или острой инфекции вирусом Эйнштейна-Барр (ВЭБ). Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами аутоантител, таких как ревматоидные факторы или антинуклеарные антитела. Помех, вызванных ревматоидными факторами, можно избежать за счет применения абсорбента РФ в буфере для разведения образцов в лунках тест-полосок Alegria®.

Серопревалентность

Анализ 100 здоровых доноров крови в Германии не выявил положительных результатов, что эквивалентно 0%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 906MX	Пол.	4	0	
Anti-Chlamydia trachomatis IgM Abs.	Отр.	0	149	
		4	149	153

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	100.0%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Gottlieb, S.L. et al., Summary: The Natural History and Immunobiology of Chlamydia trachomatis Genital Infection and Implications for Chlamydia Control, 2010, J Infect Dis 201 (Suppl 2):190-204
2. Bas, S. et al., Importance of species-specific antigens in the serodiagnosis of Chlamydia trachomatis reactive arthritis, 2002, Rheumatology 41:1017-1020

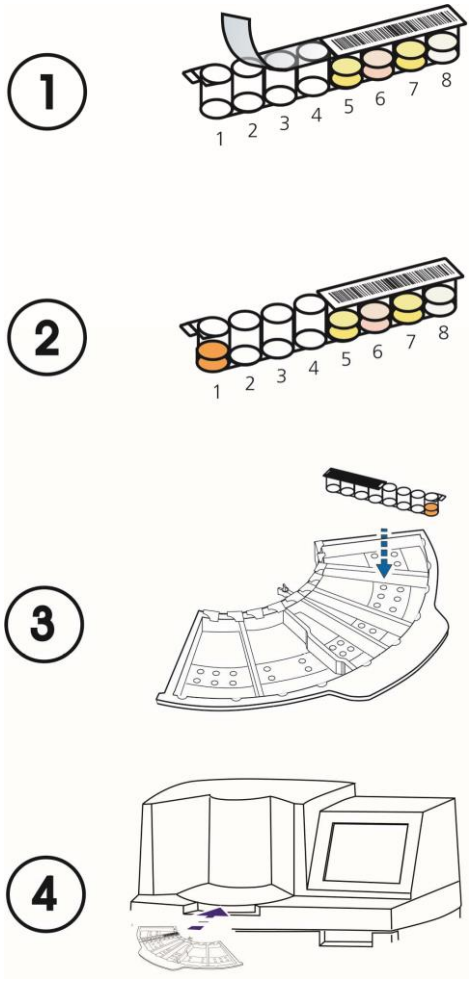
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Klein, M. et al., Detection of Chlamydia pneumoniae-Specific Antibodies Binding to the VD2 and VD3 Regions of the Major Outer Membrane Protein, 2003, J Clin Microbiol 41(5), 1957-1962
4. Närvänen, A. et al., Detection of Antibodies to Chlamydia trachomatis With Peptide-Based Species-Specific Enzyme Immunoassay, 1997, Infect Dis Obstet Gynecol. 5(5):349-354
5. Sharma, J. et al., Human Antibody Responses to a Chlamydia-Secreted Protease Factor, 2004, Infect Immun 72 (12):7164-7171
6. Murthy, A.K. et al., Chlamydial Protease-Like Activity Factor- Insights into Immunity and Vaccine Development, 2009, J Reprod Immunol 83(1-2):179-184
7. Wang, J. et al. A chlamydial type Ill-secreted effector protein (Tarp) is predominantly recognized by antibodies from humans infected with Chlamydia trachomatis and induces protective immunity against upper genital tract pathologies in mice. Vaccine 27(22):2967-80.
8. Forsbach-Birk, V. et al., Identification and evaluation of a combination of chlamydial antigens to support the diagnosis of severe and invasive Chlamydia trachomatis infections, 2010, Clin Microbiol Infect 16:1237-1244.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 906MX_IFU_EN_QM113238_2014-06-26_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

907A_4

ORG 907A Anti-Chlamydia pneumoniae IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Chlamydia pneumoniae IgA предназначена для количественного определения антител класса IgA к бактериям Chlamydia pneumoniae методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Тесты для обнаружения различных классов антител-иммуноглобулинов к бактериям Chlamydia способствуют дифференциации острых первичных (IgM), перенесенных (IgG) и первичных или повторных инфекций (IgA), а также определяют иммунный статус пациента.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
907A_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Элементарные и ретикулярные тельца C. pneumoniae CWL-029 связаны с реакционными лунками. В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

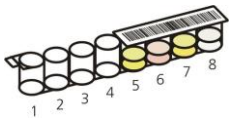
попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Chlamy pneum IgA*** на печатной этикетке ***Cpneu-A***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Калибровка анализа осуществляется в относительных лабораторных единицах. Это объясняется отсутствием международных эталонных препаратов антител IgA к Chlamydia pneumoniae.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	[%]
1	1:100	183,7	183,7	100
	1:200	99,8	98,0	104
	1:400	49,4	49,0	102
	1:800	22,3	24,0	98
2	1:100	149,8	149,8	100
	1:200	68,7	53,0	104
	1:400	34,9	26,0	102
	1:800	15,6	13,0	97
3	1:100	95,9	95,9	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	53,1	40,0	96
	1:400	30,1	20,0	102
	1:800	14,9	10,0	108

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 4,9 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	16,9	4,8
2	22,6	7,0
3	92,7	3,0

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	16,6	5,4
2	19,9	6,9
3	85,1	4,2

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями C. trachomatis, Borrelia sp., Yersinia sp. или паровирусом B19. Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами аутоантител, таких как ревматоидные факторы или антинуклеарные антитела.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 17 положительных результатов, эквивалентных 17%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 907A	Пол.	57	1	
Anti-Chlamydia pneumoniae IgA	Отр.	1	83	
		58	84	142

Чувствительность:	98.3%

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Специфичность:	98,8%
Общая согласованность:	98.6%

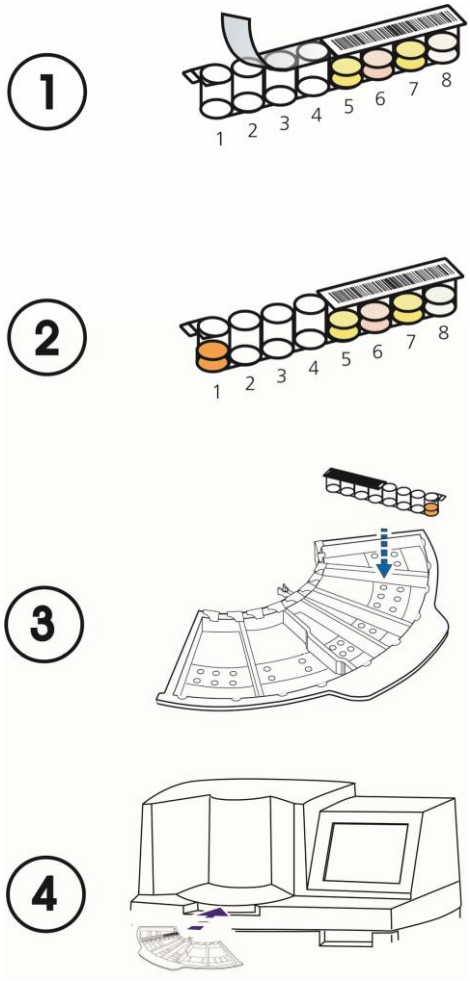
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Kumar, S. et Hammerschlag, M.R., Acute respiratory infection due to Chlamydia pneumoniae: current status of diagnostic methods, 2007, Clin Infect Dis 44(4):568-576
2. Campbell et al., Chlamydia pneumoniae pathogenesis, 2002, J. Med. Microbiol. 51:623-625
3. Villegas, E. et al., Serological diagnosis of Chlamydia pneumonia infection: limita-tions and perspectives, 2010, J Med Microbiol 59, 1267-1274
4. Bunk, S. et al. Immunoproteomic Identification and Serological Responses to Novel Chlamydia pneumoniae Antigens That Are Associated with Persistent C. pneumoniae Infections, 2008, J Immunol 180:5490-5498
5. Wolf, K. et al., Chlamydia pneumoniae Major Outer Membrane Protein Is a Surface-Exposed Antigen That Elicits Antibodies Primarily Directed against Confor-mation-Dependent Determinants, 2001, Infect Immunol 69 :3082-3091.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 907A_IFU_EN_QM113239_2014-06-26_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

907G_4

ORG 907G Anti-Chlamydia pneumoniae IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Chlamydia pneumoniae IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к бактериям Chlamydia pneumoniae методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Тесты для обнаружения различных классов антител-иммуноглобулинов к бактериям Chlamydia способствуют дифференциации острых первичных (IgM), перенесенных (IgG) и первичных или повторных инфекций (IgA), а также определяют иммунный статус.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
8°C 2°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
907G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Элементарные и ретикулярные тельца C. pneumoniae CWL-029 связаны с реакционными лунками. В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

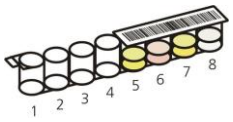
попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Chlamy pneum IgG*** на печатной этикетке ***Cpneu- G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Калибровка анализа осуществляется в относительных лабораторных единицах. Это объясняется отсутствием международных эталонных препаратов антител IgG к Chlamydia pneumoniae.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Технологии.

Образец	Разведение	Полученное	Ожидаемое	Соотнош
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	185,6	185,6	100
	1:200	102,1	98,0	104
	1:400	50,0	49,0	102
	1:800	24,0	24,0	98
2	1:100	102,4	102,4	100
	1:200	55,0	53,0	104
	1:400	26,8	26,0	102
	1:800	12,7	13,0	97
3	1:100	74,5	74,5	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	37,9	40,0	96
	1:400	20,3	20,0	102
	1:800	10,8	10,0	108

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 5,3 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	5,2	3,4
2	29,2	3,3
3	94,9	3,2

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	5,1	5,5
2	28,3	5,0
3	93,6	4,6

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями C. trachomatis, Borrelia sp., Yersinia sp. или паровирусом B19. Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами аутоантител, таких как ревматоидные факторы или антинуклеарные антитела.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 55 положительных результатов, эквивалентных 55%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 907G	Пол.	85	6	
Anti-Chlamydia pneumoniae IgG	Отр.	0	47	
		85	53	138

Чувствительность:	100.0%

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Специфичность:	88.7%
Общая согласованность:	95.7%

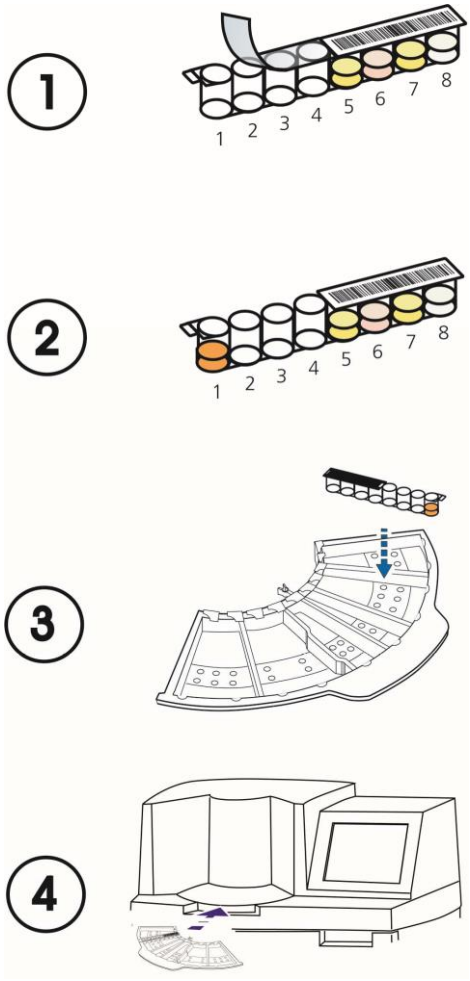
REFERENCES

1. Kumar, S. et Hammerschlag, M.R., Acute respiratory infection due to Chlamydia pneumoniae: current status of diagnostic methods, 2007, Clin Infect Dis 44(4):568-576
2. Campbell et al., Chlamydia pneumoniae pathogenesis, 2002, J. Med. Microbiol. 51:623-625
3. Villegas, E. et al., Serological diagnosis of Chlamydia pneumonia infection: limita-tions and perspectives, 2010, J Med Microbiol 59, 1267-1274
4. Bunk, S. et al. Immunoproteomic Identification and Serological Responses to Novel Chlamydia pneumoniae Antigens That Are Associated with Persistent C. pneumoniae Infections, 2008, J Immunol 180:5490-5498
5. Wolf, K. et al., Chlamydia pneumoniae Major Outer Membrane Protein Is a Surface-Exposed Antigen That Elicits Antibodies Primarily Directed against Confor-mation-Dependent Determinants, 2001, Infect Immunol 69 :3082-3091.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 907G_IFU_EN_QM113240_2014-06-26_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

907MX_4

ORG 907MX Anti-Chlamydia pneumoniae IgM Abs.

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Chlamydia pneumoniae IgM (с абсорбентом) предназначена для количественного определения антител класса IgM к бактериям Chlamydia pneumoniae методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения. В состав тест-системы Alegria® для определения антител класса IgM к Chlamydia pneumoniae (с абсорбентом) входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ).
Тесты для обнаружения различных классов антител-иммуноглобулинов к бактериям Chlamydia способствуют дифференциации острых первичных (IgM), перенесенных (IgG) и первичных или повторных инфекций (IgA), а также определяют иммунный статус пациента.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
907MX_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Элементарные и ретикулярные тельца C. pneumoniae CWL-029 связаны с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

Ревматоидный фактор (РФ) может влиять на результат определения антител класса IgM в серологии инфекционных заболеваний. Этого можно избежать, используя абсорбент РФ. В состав тест-системы Alegria® входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ). Поглощение происходит во время обработки образцов в анализаторе Alegria®. Подготовка или предварительное разведение образцов не требуется.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

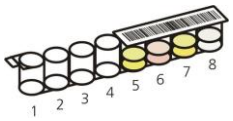
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Chlamy pneum IgM Ab*** на печатной этикетке ***Cpneu-MX***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

герметичном пакете.

- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.
(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.
Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.
Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Калибровка анализа осуществляется в относительных лабораторных единицах. Это объясняется отсутствием международных эталонных препаратов антител IgM к Chlamydia pneumoniae.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений
Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения
Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.
Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность
Не применимо. Данный анализ является нелинейным количественным определением, т.к. буфер образца содержит абсорбент РФ.

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 4,5 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	8,5	2,3
2	26,1	10,2
3	58,5	4,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	7,3	9,0
2	23,1	8,6
3	54,0	7,0

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями C. trachomatis, Borrelia sp., Yersinia sp. или паровирусом B19. Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами аутоантител, таких как ревматоидные факторы или антинуклеарные антитела.

В образцах, взятых у пациентов с острой инфекцией вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), была обнаружена более высокая серопревалентность, возможно, вызванная поликлональной стимуляцией В-лимфоцитов у этих пациентов. Помех, вызванных ревматоидными факторами, можно избежать за счет применения абсорбента РФ в буфере для разведения образцов в лунках тест-полосок Alegria®.

Серопревалентность

Анализ 100 здоровых доноров крови в Германии не выявил положительных результатов, что эквивалентно 0%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 907MX	Пол.	6	0	
Anti-Chlamydia pneumoniae IgM Abs	Отр.	0	153	
		6	153	159

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	100.0%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Kumar, S. et Hammerschlag, M.R., Acute respiratory infection due to Chlamydia pneumoniae: current status of diagnostic methods, 2007, Clin Infect Dis 44(4):568-576
2. Campbell et al., Chlamydia pneumoniae pathogenesis, 2002, J. Med. Microbiol. 51:623-625
3. Villegas, E. et al., Serological diagnosis of Chlamydia pneumonia infection: limita-tions and

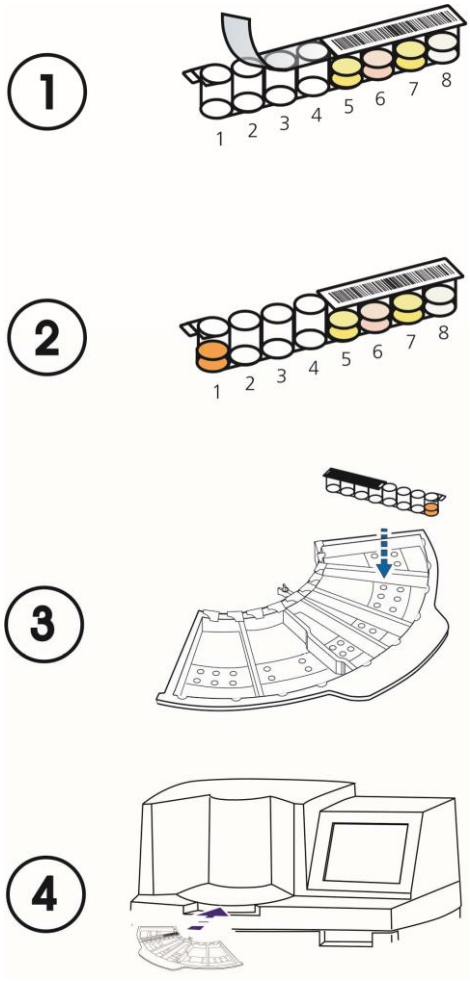
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

perspectives, 2010, J Med Microbiol 59, 1267-1274
4. Bunk, S. et al. Immunoproteomic Identification and Serological Responses to Novel Chlamydia pneumoniae Antigens That Are Associated with Persistent C. pneumoniae Infections, 2008, J Immunol 180:5490-5498
5. Wolf, K. et al., Chlamydia pneumoniae Major Outer Membrane Protein Is a Surface-Exposed Antigen That Elicits Antibodies Primarily Directed against Confor-mation-Dependent Determinants, 2001, Infect Immunol 69 :3082-3091.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 907MX_IFU_EN_QM113242_2014-06-26_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

901G_4

ORG 901G Anti-EBV (VCA) IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-EBV (VCA) IgG для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgG к капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) может стать прииной инфекционного мононуклеоза (железистая лихорадка, «болезнь поцелуев»). На ранней стадии заболевания последовательно выявляются антитела IgM и IgG к ВЭБ.. Обычно примерно через три недели после появления симптомов достигается максимальная концентрация антител класса IgM к ВЭБ; самая высокая концентрация антител класса IgG достигается примерно через шесть недель. Антитела класса IgG к ВЭБ сохраняются на протяжении всей жизни пациента и указывают на иммунный статус и предшествующее перенесенное инфицирование вирусом.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
901G_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Рекомбинантный антиген ВЭБ (VCAp18 и VCAp23) высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

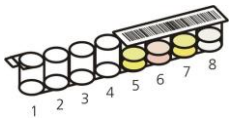
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **EBVVCA IgG** на печатной этикетке: **VCA-G**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

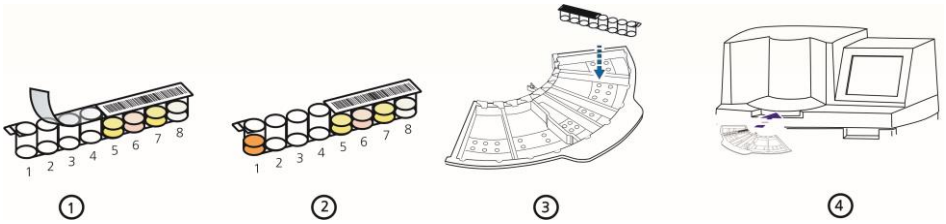
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-400 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 25 ед./мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	233,0	233,0	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	172,0	167,0	103
	1:400	93.0	84,0	111
	1:800	49,0	42,0	116
2	1:100	210,0	210,0	100
	1:200	121,0	117,0	104
	1:400	62,0	58,0	107
	1:800	29,0	29,0	99
3	1:100	305,0	305,0	100
	1:200	186,0	191,0	97
	1:400	105,0	96,0	110
	1:800	54,0	48,0	113

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 6,1 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	4,7	8,1
2	26,5	4,3
3	166,3	8,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	5,1	2,8
2	28,7	4,1
3	175,5	12,0

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 901G	Пол.	374	3	
Anti-EBV (VCA) IgG	Отр.	2	15	
		376	18	394

Чувствительность:	99.5%
Специфичность:	83.3%
Общая согласованность:	98.7 %

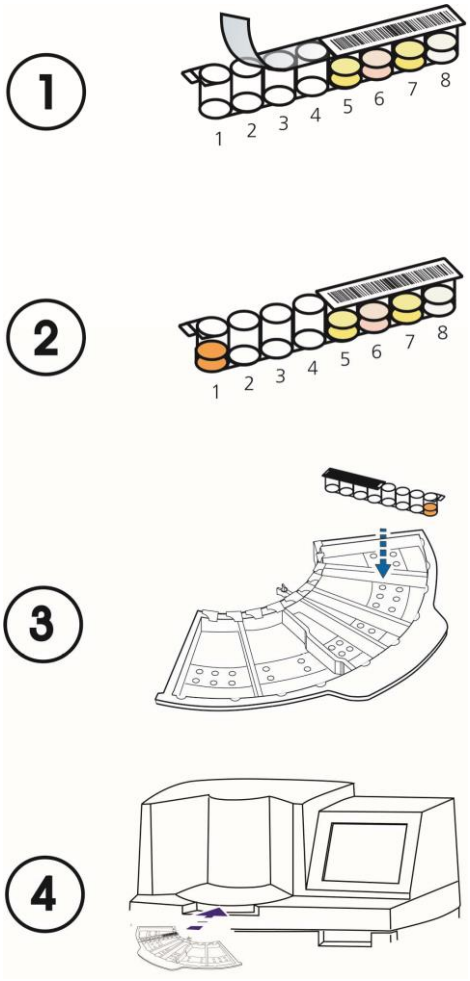
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. G. W. Bornkamm and W. Hammerschmidt. Molecular virology of Epstein-Barr virus. Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol Sei 356 (1408):437-459, 2001.
2. Dorothy H. Crawford. Biology and disease associations of Epstein Barr virus. Philosophical Transactions of the Royal Society of London.Series B: Biological Sciences 356 (1408):461-473, 2001.
3. R. Dardari, W. Minderer, D. Lang, A. Benider, Gueddari B. El, I. Joab, A. Benslimane, and M. Khyatti. Antibody responses to recombinant Epstein-Barr virus antigens in nasopharyngeal carcinoma patients: complementary test of ZEBRA protein and early antigens p54 and p138. J Clin Microbiol 39 (9):3164-3170, 2001.
4. M. Gorgievski-Hrisoho, W. Hinderer, H. Nebel-Schickel, J. Horn, R. Vornhagen, H. H. Sonneborn, H. Wolf, and G. Siegl. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. J Clin Microbiol 28 (10):2305-2311, 1990.
5. M. L. Gulley and W. Tang. Laboratory assays for Epstein-Barr virus-related disease. J Mol Diagn. 10 (4):279 -292, 2008.
6. R. D. Hess. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years. J Clin Microbiol 42 (8):3381-3387, 2004.
7. W. Hinderer, D. Lang, M. Rothe, R. Vornhagen, H. H. Sonneborn, and H. Wolf. Serodiagnosis of Epstein-Barr virus infection by using recombinant viral capsid antigen fragments and autologous gene fusion. J Clin Microbiol 37 (10):3239-3244, 1999.
8. D. J. Moss, S. R. Burrows, S. L. Silins, I. Misko, and R. Khanna. The immunology of Epstein-Barr virus infection. Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol Sei 356 (1408):475-488, 2001.
9. R. Tedeschi, E. Pin, D. Martorell!, E. Bidoli, A. Marus, C. Pratesi, M. T. Bortolin, S. Zanussi, E. Vaccher, R. Dolcetti, and Paoli P. De. Serum antibody response to lytic and latent Epstein-Barr virus antigens in undifferentiated nasopharyngeal carcinoma patients from an area of nonendemicity. Clin Vaccine Immunol 14 (4):435-441, 2007.
10. R. Tedeschi, Y.T.Foong, H.M. Cheng, P. de Paoli, T. Lethinen, T. Elfborg, J. Dillner, S. The disease associations of the antibody response against the Epstein-Barr virus transactivator protein ZEBRA can be separated into different AnitnnAR .1 Оап Virnl 76 1393-1400 1995

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 901G_IFU_EN_QM113222_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

901MX_4

ORG 901MX Anti-EBV (VCA) IgM Abs.

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-EBV (VCA) IgM (с абсорбентом) для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgM к вирусу Эпштейн-Барр методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения. В состав тест-системы Alegria® для определения антител класса IgM к капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр (с абсорбентом) входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ).

Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) может стать прииной инфекционного мононуклеоза (железистая лихорадка, «болезнь поцелуев»). На ранней стадии заболевания последовательно выявляются антитела IgM и IgG к ВЭБ.. Обычно примерно через три недели после появления симптомов достигается максимальная концентрация антител класса IgM к ВЭБ; самая высокая концентрация антител класса IgG достигается примерно через шесть недель. Антитела класса IgG к ВЭБ сохраняются на протяжении всей жизни пациента и указывают на иммунный статус и предшествующее перенесенное инфицирование вирусом.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
8°C 2°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
2	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
901MX_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантный антиген ВЭБ (VCA pl8) высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.
Ревматоидный фактор (РФ) может влиять на результат определения антител класса IgM в серологии инфекционных заболеваний. Этого можно избежать, используя абсорбент РФ. В состав тест-системы Alegria® входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ). Поглощение происходит во время обработки образцов в анализаторе Alegria®. Подготовка или предварительное разведение образцов не требуется

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

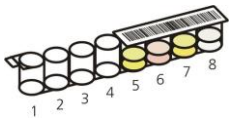
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **EBVVCA IgM Ab** на печатной этикетке: **VCA-MX**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

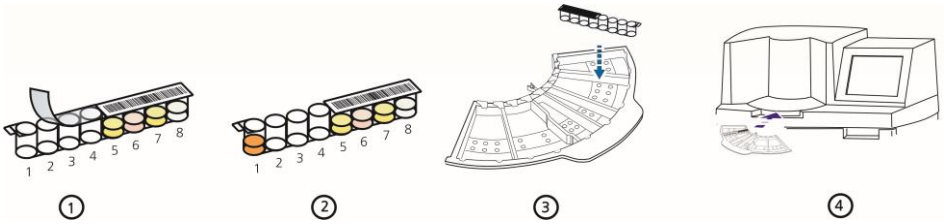
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Не применимо. Данный анализ является нелинейным количественным определением, т.к. буфер образца содержит абсорбент РФ.

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 5,8 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	17,6	6,2
2	36,2	5,5
3	139,3	2,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	17,1	6,3
2	32,2	2,0
3	151,0	8,3

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 901MX	Пол.	16	0	
Anti-EBV (VCA) IgM Abs	Отр.	0	110	
		16	110	126

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	100.0%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. G. W. Bornkamm and W. Hammerschmidt. Molecular virology of Epstein-Barr virus. Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol Sei 356 (1408):437-459, 2001.
2. Dorothy H. Crawford. Biology and disease associations of Epstein Barr virus. Philosophical Transactions

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

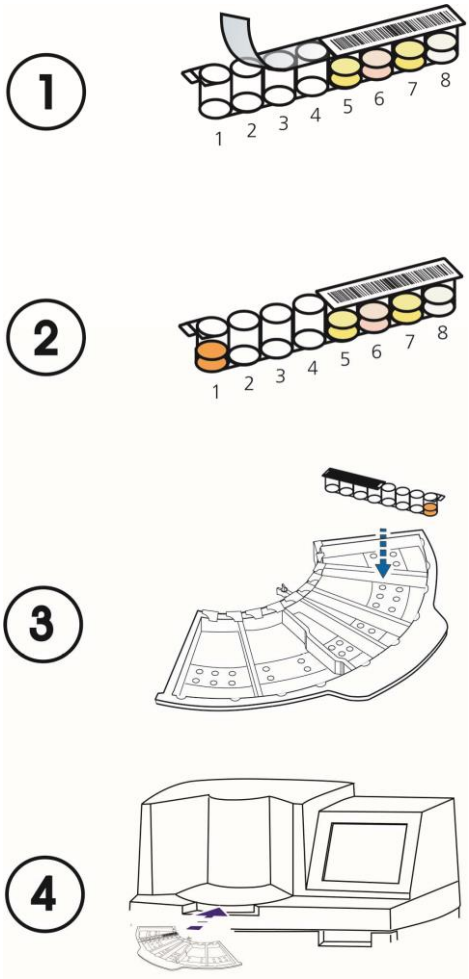
of the Royal Society of London.Series B: Biological Sciences 356 (1408):461-473, 2001.

3. R. Dardari, W. Minderer, D. Lang, A. Benider, Gueddari B. El, I. Joab, A. Benslimane, and M. Khyatti. Antibody responses to recombinant Epstein-Barr virus antigens in nasopharyngeal carcinoma patients: complementary test of ZEBRA protein and early antigens p54 and p138. J Clin Microbiol 39 (9):3164-3170, 2001.
4. M. Gorgievski-Hrisoho, W. Hinderer, H. Nebel-Schickel, J. Horn, R. Vornhagen, H. H. Sonneborn, H. Wolf, and G. Siegl. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. J Clin Microbiol 28 (10):2305-2311, 1990.
5. M. L. Gulley and W. Tang. Laboratory assays for Epstein-Barr virus-related disease. J Mol Diagn. 10 (4):279 -292, 2008.
6. R. D. Hess. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years. J Clin Microbiol 42 (8):3381-3387, 2004.
7. W. Hinderer, D. Lang, M. Rothe, R. Vornhagen, H. H. Sonneborn, and H. Wolf. Serodiagnosis of Epstein-Barr virus infection by using recombinant viral capsid antigen fragments and autologous gene fusion. J Clin Microbiol 37 (10):3239-3244, 1999.
8. D. J. Moss, S. R. Burrows, S. L. Silins, I. Misko, and R. Khanna. The immunology of Epstein-Barr virus infection. Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol Sei 356 (1408):475-488, 2001.
9. R. Tedeschi, E. Pin, D. Martorell!, E. Bidoli, A. Marus, C. Pratesi, M. T. Bortolin, S. Zanussi, E. Vaccher, R. Dolcetti, and Paoli P. De. Serum antibody response to lytic and latent Epstein-Barr virus antigens in undifferentiated nasopharyngeal carcinoma patients from an area of nonendemicity. Clin Vaccine Immunol 14 (4):435-441, 2007.
10. R. Tedeschi, Y.T.Foong, H.M. Cheng, P. de Paoli, T. Lethinen, T. Elfborg, J. Dillner, S. The disease associations of the antibody response against the Epstein-Barr virus transactivator protein ZEBRA can be separated into different AnitnnAR .1 Оап Virnl 76 1393-1400 1995

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 901 MX_IFU_EN_QM 113224_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

902_4

ORG 902 Anti-EBV (EBNA-1) IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-EBV (EBNA-1) IgG для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgG к ядерному антигену вируса Эпштейна-Барр методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) может стать прииной инфекционного мононуклеоза (железистая лихорадка, «болезнь поцелуев»). Примерно через шесть-восемь недель после появления симптомов у пациентов образуются антитела класса IgG к ядерному антигену вируса Эпштейна-Барр. Наличие этих антител указывает на переход инферции из активной в латентную фазу. Таким образом: обнаружение антител класса IgG к ядерному антигену вируса Эпштейна-Бар-1 позволяет исключить первичное инфицирование ВЭБ.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
902_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Рекомбинантный антиген ВЭБ (EBNA-1) высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

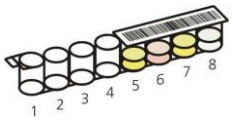
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **EBVEBNA-1 IgG** на печтаной этикетке: **EBNA-G**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

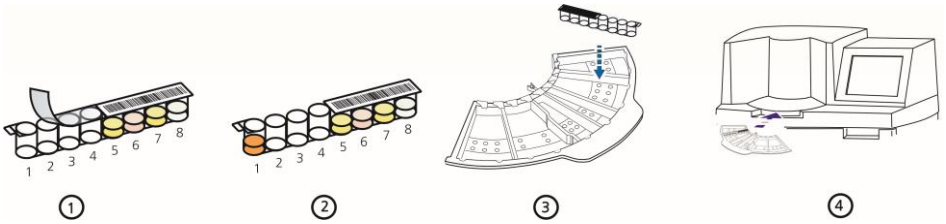
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-800 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1	1:100	279,0	279,0	100
	1:200	124,0	121,0	103
	1:400	57,0	60,0	94
	1:800	27,0	30,0	88
2	1:100	426,0	426,0	100
	1:200	209,0	199,0	105
	1:400	99,0	100.0	100
	1:800	44,0	50.0	88
3	1:100	119,0	119,0	100
	1:200	54,0	54,0	102
	1:400	24,0	27,0	91
	1:800	13,0	13,0	96

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 5,8 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	7,3	3,9
2	27,5	4,6
3	155,5	8,2

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	7,9	3,8
2	26,4	8,0
3	147,8	4,5

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Статус инфекции ВЭБ:	ВЭБ-положительно	ВЭБ-отрицательно		
	Отсутствует	Острая стадия	Острая стадия или недавно перенесенная	Перенесенная в прошлом
Alegria® Anti-EBV(VCA)IgG	Отр.	Отр.	Пол.	Пол.
Alegria® Anti-EBV(VCA)IgM	Отр.	Пол.	Пол.	Отр.

Alegria® Anti-EBV(EBNA+1)IgG	Пол.	**1**	0	7	437
	Отр.	27	**1**	9	18
		28			455

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

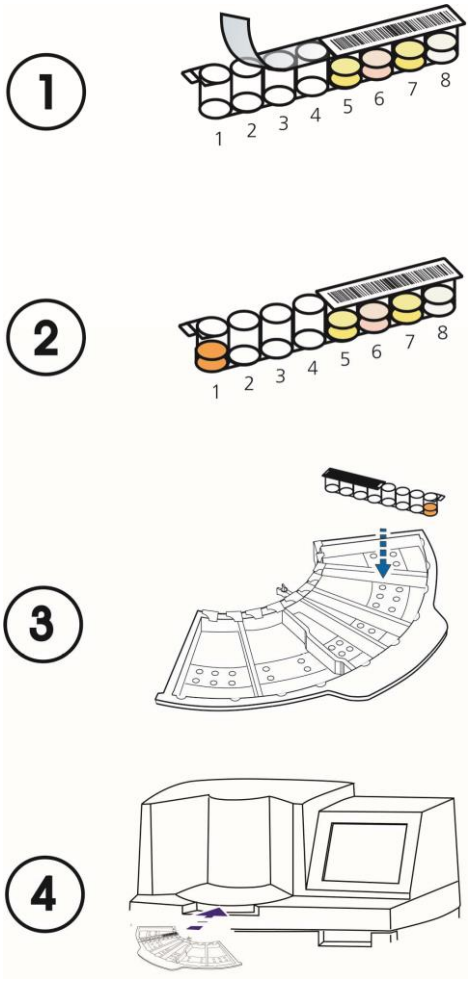
1. G. W. Bornkamm and W. Hammerschmidt. Molecular virology of Epstein-Barr virus. Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol Sei 356 (1408):437-459, 2001.
2. Dorothy H. Crawford. Biology and disease associations of Epstein Barr virus. Philosophical Transactions of the Royal Society of London.Series B: Biological Sciences 356 (1408):461-473, 2001.
3. R. Dardari, W. Minderer, D. Lang, A. Benider, Gueddari B. El, I. Joab, A. Benslimane, and M. Khyatti. Antibody responses to recombinant Epstein-Barr virus antigens in nasopharyngeal carcinoma patients: complementary test of ZEBRA protein and early antigens p54 and p138. J Clin Microbiol 39 (9):3164-3170, 2001.
4. M. Gorgievski-Hrisoho, W. Hinderer, H. Nebel-Schickel, J. Horn, R. Vornhagen, H. H. Sonneborn, H. Wolf, and G. Siegl. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. J Clin Microbiol 28 (10):2305-2311, 1990.
5. M. L. Gulley and W. Tang. Laboratory assays for Epstein-Barr virus-related disease. J Mol Diagn. 10 (4):279 -292, 2008.
6. R. D. Hess. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years. J Clin Microbiol 42 (8):3381-3387, 2004.
7. W. Hinderer, D. Lang, M. Rothe, R. Vornhagen, H. H. Sonneborn, and H. Wolf. Serodiagnosis of Epstein-Barr virus infection by using recombinant viral capsid antigen fragments and autologous gene fusion. J Clin Microbiol 37 (10):3239-3244, 1999.
8. D. J. Moss, S. R. Burrows, S. L. Silins, I. Misko, and R. Khanna. The immunology of Epstein-Barr virus infection. Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol Sei 356 (1408):475-488, 2001.
9. R. Tedeschi, E. Pin, D. Martorell!, E. Bidoli, A. Marus, C. Pratesi, M. T. Bortolin, S. Zanussi, E. Vaccher, R. Dolcetti, and Paoli P. De. Serum antibody response to lytic and latent Epstein-Barr virus antigens in undifferentiated nasopharyngeal carcinoma patients from an area of nonendemicity. Clin Vaccine Immunol 14 (4):435-441, 2007.
10. R. Tedeschi, Y.T.Foong, H.M. Cheng, P. de Paoli, T. Lethinen, T. Elfborg, J. Dillner, S. The disease associations of the antibody response against the Epstein-Barr virus transactivator protein ZEBRA can be separated into different AnitnnAR .1 Оап Virnl 76 1393-1400 1995

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 902_IFU_EN_QM113225_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

910_5

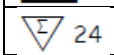
ORG 910 Anti-EBV (ZEBRA) IgM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-EBV (ZEBRA) IgM для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgM к вирусу Эпштейн-Барр методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Данный анализ используется для выявления острой первичной инфекции ВЭБ, которая может вызвать инфекционный мононуклеоз (железистая лихорадка, «болезнь поцелуев»). Антитела класса IgM направлены против специфических белков ZEBRA и обнаруживаются исключительно в острой первичной фазе. Их определение используется в качестве ранних маркеров инфекции ВЭБ.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
910_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Рекомбинантный антиген ВЭБ (ZEBRA-пептид) высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

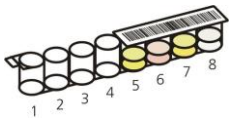
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***EBVZEBRA IgM*** на печатной этикетке ***ZEBRA-M***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

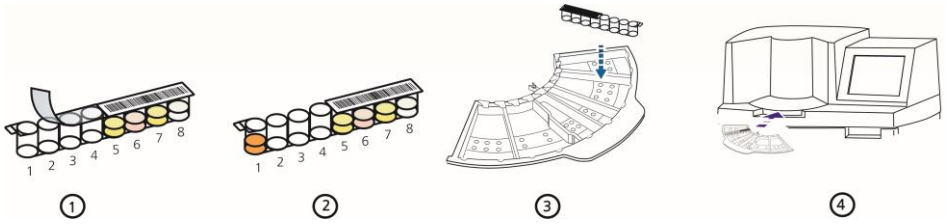
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	145,3	145,3	100
	1:200	69,7	73,0	95

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	38,4	37,0	104
	1:800	18,6	18,0	103
2	1:100	221,4	221,4	100
	1:200	117,5	117,0	100
	1:400	63,0	59,0	107
	1:800	28,5	29,0	98
3	1:100	124,8	124,8	100
	1:200	63,0	61,0	103
	1:400	29,5	30,0	98
	1:800	14,7	15,0	98

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 6,9 ед/мл.

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	8,0	5,6
2	21,1	4,1
3	66,8	4,1

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	6,3	5,0
2	20,2	5,6
3	69,9	6,6

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 910	Пол.	13	6	
Anti-EBV (ZEBRA) IgM.	Отр.	1	519	
		14	525	539

]

Чувствительность:	92.9%
Специфичность:	98.9%
Общая согласованность:	98.7%

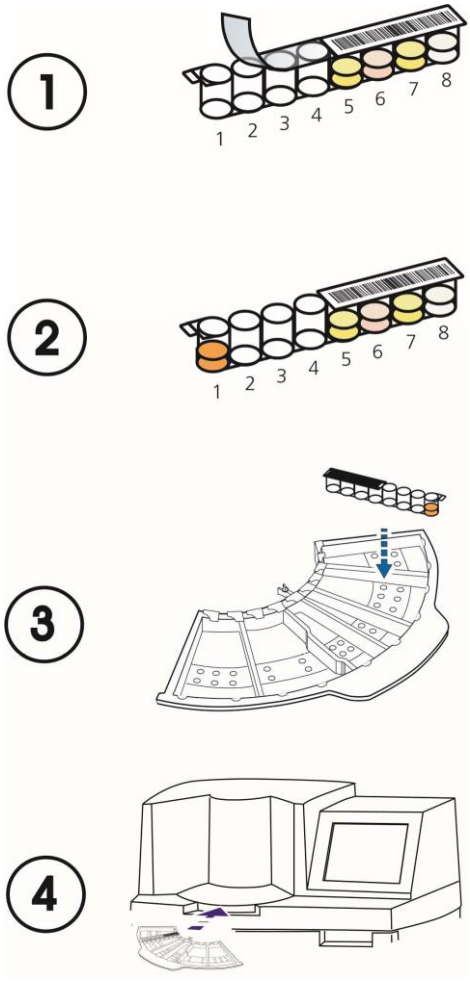
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. G. W. Bornkamm and W. Hammerschmidt. Molecular virology of Epstein-Barr virus. Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol Sei 356 (1408):437-459, 2001.
2. Dorothy H. Crawford. Biology and disease associations of Epstein Barr virus. Philosophical Transactions of the Royal Society of London.Series B: Biological Sciences 356 (1408):461-473, 2001.
3. R. Dardari, W. Minderer, D. Lang, A. Benider, Gueddari B. El, I. Joab, A. Benslimane, and M. Khyatti. Antibody responses to recombinant Epstein-Barr virus antigens in nasopharyngeal carcinoma patients: complementary test of ZEBRA protein and early antigens p54 and p138. J Clin Microbiol 39 (9):3164-3170, 2001.
4. M. Gorgievski-Hrisoho, W. Minderer, H. Nebel-Schickel, J. Horn, R. Vornhagen, H. H. Sonneborn, H. Wolf, and G. Siegl. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. J Clin Microbiol 28 (10):2305-2311,1990.
5. M. L. Gulley and W. Tang. Laboratory assays for Epstein-Barr virus-related disease. J Mol Diagn. 10 (4):279 -292, 2008.
6. R. D. Hess. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years. J Clin Microbiol 42 (8):3381-3387, 2004.
7. W. Minderer, D. Lang, M. Rothe, R. Vornhagen, H. H. Sonneborn, and H. Wolf. Serodiagnosis of Epstein-Barr virus infection by using recombinant viral capsid antigen fragments and autologous gene fusion. J Clin Microbiol 37 (10):3239-3244, 1999.
8. D. J. Moss, S. R. Burrows, S. L. Silins, I. Misko, and R. Khanna. The immunology of Epstein-Barr virus infection. Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol Sei 356 (1408):475-488, 2001.
9. R. Tedeschi, E. Pin, D. Martorelli, E. Bidoli, A. Marus, C. Pratesi, M. T. Bortolin, S. Zanussi, E. Vaccher, R. Dolcetti, and Paoli P. De. Serum antibody response to lytic and latent Epstein-Barr virus antigens in undifferentiated nasopharyngeal carcinoma patients from an area of nonendemicity. Clin Vaccine Immunol 14 (4):435-441, 2007.
10. R. Tedeschi, Y.T.Foong, H.M. Cheng, P. de Paoli, T. Lethinen, T. Elfborg, J. Dillner, S. The disease associations of the antibody response against the Epstein-Barr virus transactivator protein ZEBRA can be separated into different AnitnnAR J Оап Virnl 76 1393-1400 1995

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 910_IFU_EN_QM113249_2015-05-12_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

917A_3

ORG 917A Anti-Helicobacter pylori IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Helicobacter pylori IgA для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgA к бактериям Helicobacter pylori методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Тест используется для подтверждения диагноза Helicobacter pylori. H. pylory вызывает хроническую инфекцию желудка, избавиться от которой можно только с помощью приема специфических антибиотиков. Наличие антител класса IgG до начала лечения указывает на существующую инфекцию. У некоторых пациентов появляются дополнительные IgA-антитела, которые подтверждают результаты исследования IgG. После успешного лечения антибиотиками титры антител значительно снижаются, однако низкий уровень IgG может сохраняться до 12 месяцев.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
917A_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Реакционные лунки покрываются смесью цельноклеточного лизата H. Pylori и рекомбинантного адгезина CagA.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

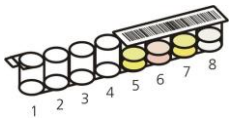
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Helico pylori IgA*** на печатной этикетке ***Hpylo-A***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	%
1	1:100	154,1	154,1	100
	1:200	78.1	77,1	101
	1:400	38,0	38,5	99
	1:800	18,7	19,3	97
2	1:100	114,5	114,5	100
	1:200	59,4	57,3	104
	1:400	32,0	28,6	112
	1:800	16,5	14,3	115

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3	1:100	175,4	175,4	100
	1:200	82,1	87,7	94
	1:400	38,8	43,9	89
	1:800	20,5	21,9	94
	1:1600	11,0	11,0	100

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 2,7 ед/мл.

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	13,5	9,7
2	29,0	4,9
3	53,7	7,9

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	15,2	8,5
2	29,1	6,8
3	55,6	6,8

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
При острой инфекции ВЭБ интерференции не обнаружено. Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами аутоантител, таких как ревматоидные факторы или антинуклеарные антитела.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 24 положительных результатов, эквивалентных 24%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

		Сравнительный метод	
		Пол.	Отр.
ORG 917A	Пол.	48	2
Anti-Helicobacter pylori IgA	Отр.	7	275

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Чувствительность:	87.3%
Специфичность:	99.3%
Общая согласованность:	97.3%

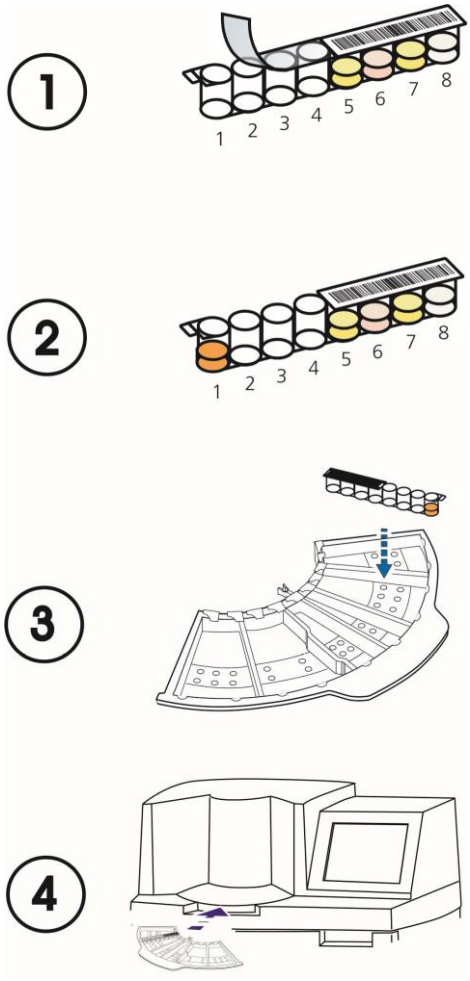
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Calvet.X., Ramirez Lazaro,M.J., Lehours,P., and Megrand,F., Diagnosis and epidemiology of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter.* 2013.18 Suppl 1:5-11.
2. Fock,K.M., Graham,D.Y., and Malfertheiner,P., Helicobacter pylori research: historical insights and future directions. *Nat Rev Gastroenterol.Hepatol.* 2013.10: 495-500.
3. Gao,L., Michel,A., Weck,M.N., Arndt,V., Pawlita,M., and Brenner,H., Helicobacter pylori infection and gastric cancer risk: evaluation of 15 H. pylori proteins determined by novel multiplex serology. *Cancer Res.* 2009. 69: 6164-6170.
4. Leal,Y.A., Flores,L.L., Garcia-Cortes,L.B., Cedillo-Rivera,R., and Torres,J., Antibody-based detection tests for the diagnosis of Helicobacter pylori infection in children: a meta-analysis. *PLoS ONE* 2008. 3: e3751.
5. Malfertheiner,P., Megraud,F., O'Morain,C.A., Atherton,J., Axon,A.T., Bazzoli,F., Gensini,G.F., Gisbert,J.P., Graham,D.Y., Rokkas,T., EI-Omar,E.M., and Kuipers,E.J., Management of Helicobacter pylori infection—the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012. 61: 646-664.
6. Megraud,F. and Lehours,P., Helicobacter pylori detection and antimicrobial susceptibility testing. *Clin.Microbiol. Rev.* 2007.20: 280-322.
7. Urita.Y., Hike.K., Torii.N., Kikuchi,Y., Kurakata,H., Kanda,E., Sasajima,M., and Miki.K., Comparison of serum IgA and IgG antibodies for detecting Helicobacter pylori infection, *intern.Med.* 2004. 43: 548-552.
8. Wex,T., Venerito,M., Kreutzer,J., Götze,T., Kandulski,A., and Malfertheiner,P., Serological prevalence of Helicobacter pylori infection in Saxony-Anhalt, Germany, in 2010. *Clin.Vaccine Immunol.* 2011. 18: 2109-2112.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 917A_IFU_EN_QM132288_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

917G_3

ORG 917G Anti-Helicobacter pylori IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Helicobacter pylori IgG для анализатора IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к бактериям Helicobacter pylori методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Тест используется для подтверждения диагноза Helicobacter pylori. H. pylory вызывает хроническую инфекцию желудка, избавиться от которой можно только с помощью приема специфических антибиотиков. Наличие антител класса IgG до начала лечения указывает на существующую инфекцию. У некоторых пациентов появляются дополнительные IgA-антитела, которые подтверждают результаты исследования IgG. После успешного лечения антибиотиками титры антител значительно снижаются, однако низкий уровень IgG может сохраняться до 12 месяцев.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
917G_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Реакционные лунки покрываются смесью цельноклеточного лизата H. Pylori и рекомбинантного адгезина CagA.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

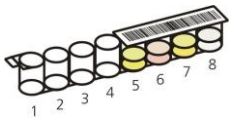
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Helico pylori IgG*** на печатной этикетке ***Hpylo- G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.

- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	%
1	1:100	202,6	202,6	100
	1:200	102,1	101,3	101
	1:400	50.0	50,7	99
	1:800	25,3	25,3	100
2	1:100	156,5	156,5	100
	1:200	73,5	78,3	94
	1:400	34,1	39,1	87
	1:800	19,6	19,6	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3	1:100	82,8	82,8	100
	1:200	41,2	41,4	100
	1:400	21,1	20,7	102
	1:800	11,3	10,4	109
	1:1600	6,1	5,2	118

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 2,3 ед/мл.

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	14,5	5,1
2	23,8	4,7
3	126,0	6,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	16,4	7,2
2	25.0	6,8
3	155,8	10,0

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
При острой инфекции ВЭБ интерференции не обнаружено. Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами аутоантител, таких как ревматоидные факторы или антинуклеарные антитела.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 25 положительных результатов, эквивалентных 25%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

		Сравнительный метод Пол.	Отр.	
ORG 917G	Пол.	67	11	
Anti-Helicobacter pylori IgG	Отр.	1	280	
		68	291	359

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Чувствительность:	98.5%
Специфичность:	96.2%
Общая согласованность:	96.7%

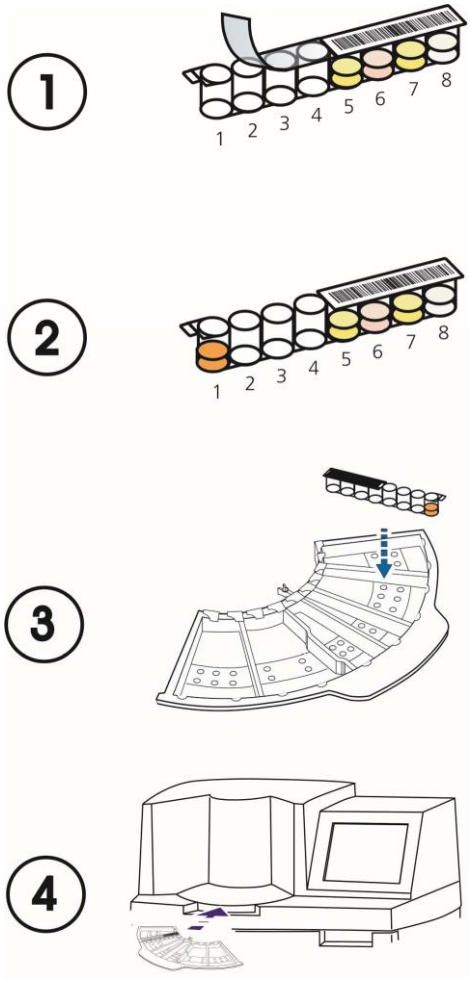
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Calvet.X., Ramirez Lazaro,M.J., Lehours,P., and Megrand,F., Diagnosis and epidemiology of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter.* 2013.18 Suppl 1:5-11.
2. Fock,K.M., Graham,D.Y., and Malfertheiner,P., Helicobacter pylori research: historical insights and future directions. *Nat Rev Gastroenterol.Hepatol.* 2013.10: 495-500.
3. Gao,L., Michel,A., Weck,M.N., Arndt,V., Pawlita,M., and Brenner,H., Helicobacter pylori infection and gastric cancer risk: evaluation of 15 H. pylori proteins determined by novel multiplex serology. *Cancer Res.* 2009. 69: 6164-6170.
4. Leal,Y.A., Flores,L.L., Garcia-Cortes,L.B., Cedillo-Rivera,R., and Torres,J., Antibody-based detection tests for the diagnosis of Helicobacter pylori infection in children: a meta-analysis. *PLoS ONE* 2008. 3: e3751.
5. Malfertheiner,P., Megraud,F., O'Morain,C.A., Atherton,J., Axon,A.T., Bazzoli,F., Gensini,G.F., Gisbert,J.P., Graham,D.Y., Rokkas,T., EI-Omar,E.M., and Kuipers,E.J., Management of Helicobacter pylori infection—the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012. 61: 646-664.
6. Megraud,F. and Lehours,P., Helicobacter pylori detection and antimicrobial susceptibility testing. *Clin.Microbiol. Rev.* 2007.20: 280-322.
7. Urita.Y., Hike.K., Torii.N., Kikuchi,Y., Kurakata,H., Kanda,E., Sasajima,M., and Miki.K., Comparison of serum IgA and IgG antibodies for detecting Helicobacter pylori infection, *intern.Med.* 2004. 43: 548-552.
8. Wex,T., Venerito,M., Kreutzer,J., Götze,T., Kandulski,A., and Malfertheiner,P., Serological prevalence of Helicobacter pylori infection in Saxony-Anhalt, Germany, in 2010. *Clin.Vaccine Immunol.* 2011. 18: 2109-2112.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 917G_IFU_EN_QM132289_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

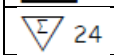
903MX_4

ORG 903MX Anti-HSV-1 IgM Abs.

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-HSV-1 IgM (с абсорбентом) для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgM к общему антигену вируса простого герпеса I типа методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотки или плазмы человека образцов. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения. В состав тест-системы Alegria® для определения антител класса IgM к ВПГ-1 (с абсорбентом) входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ).
Выявление антител класса IgM к ВПГ-1 и ВПГ-2 важно в случаях подозрения на первичное инфицирование ВПГ. Тест может быть использован для подтверждения острой инфекции, которая была выявлена с помощью PGP. Кроме того, антитела класса IgM могут обнаруживаться в случаях рецидивирующей или хронической инфекции.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
903MX_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Антиген цельного вируса ВПГ-1 связывается с реаакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.
Ревматоидный фактор (РФ) может влиять на результат определения антител класса IgM в серологии инфекционных заболеваний. Этого можно избежать, используя абсорбент РФ. В состав тест-системы Alegria® входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ). Поглощение происходит во время обработки образцов в анализаторе Alegria®. Подготовка или предварительное разведение образцов не требуется.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

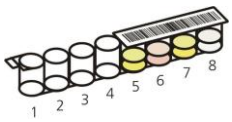
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **HSV-1 IgM Ab** на печатной этикетке **HSV-1 IgM Ab**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

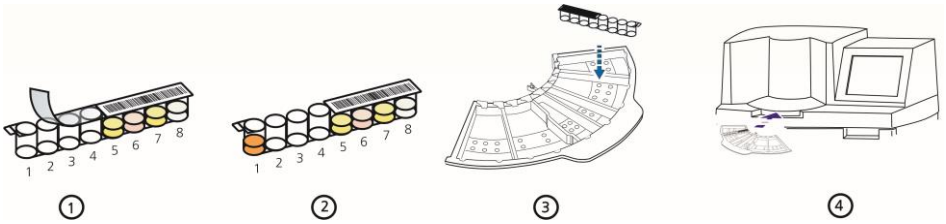
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены.

Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Поскольку ВПГ-1 и ВПГ-2 иммунологически очень похожи, почти все антитела, образующиеся у инфицированного человека, перекрестно реактивны. Специфический для типа ВПГ гликопротеин G является исключением, поскольку данные антигены обоих вирусов достаточно сильно различаются. Тем не менее, гликопротеин G только индуцмрует образование антител класса IgG.

Линейность

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Не применимо. Данный анализ является нелинейным количественным определением, т.к. буфер образца содержит абсорбент РФ.

Предел обнаружения
Наименьшее количество обнаруживаемого аналита составляет: 6,8 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	11,2	9,7
2	24,3	4,7
3	37,2	6,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	5,4	9,8
2	22,3	6,5
3	62,2	7,5

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 903MX	Пол.	5	0	
Anti-HSV-1 IgM Abs	Отр.	1	88	
		6	88	94

Чувствительность:	83.3%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	98.9 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

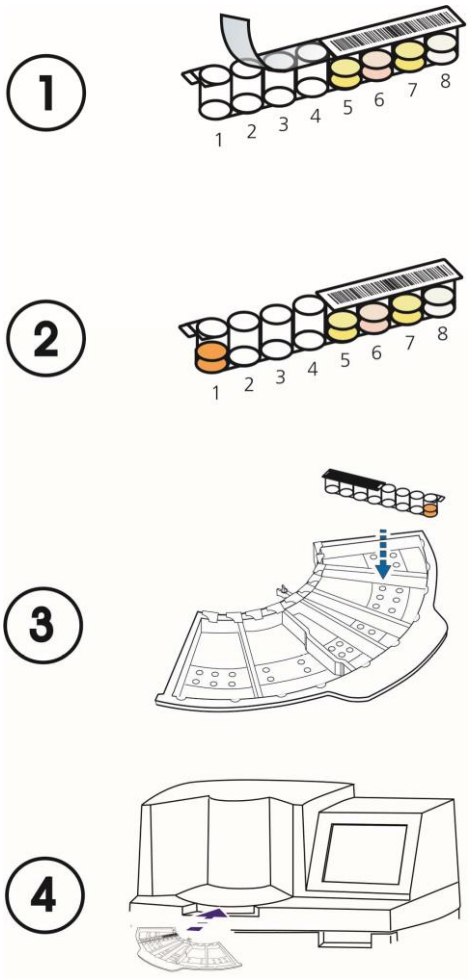
1. Dwyer, E.D. and Cunningham, A.L., Herpes simplex and varicella-zoster virus infections, 2002, MJA 177(5):267 -73
2. Gardella, C. and Brown, Z.A., Managing genital herpes infections in pregnancy, 2007, Cleve Clin J Med 74 (3):217-224
3. Kimberlin, D.W., Neonatal Herpes Simplex Infection, 2004, Clin Microbiol Rev 17(1):1 -13

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. Ashley, L.A., Performance and use of HSV type-specific serology test kits, 2002, Herpes 9(2):38-45
5. Freedman, E. et al, Epidemiological, Clinical and Laboratory Aids for the Diagnosis of Neonatal Herpes - an Australian Perspective, 2004, Herpes 11(2):38-40
6. Choudhry, S. et al., Serological profile of HSV-2 in patients attending STI clinic: Evaluation of diagnostic utility of HSV-2 IgM detection, 2009, Indian J Pathol Microbiol 52(3):353-6

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 903MX_IFU_EN_QM113228_2018-01-02_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

903G_5

ORG 903G Anti-HSV-1 IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-HSV-1 IgG для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgG к гликопротеину G (gG1) вируса простого герпеса I типа методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Обнаружение антител класса IgG к гликопротеину G1 (gG1), специфичного для типа ВПГ, позволяет отличить инфекцию ВПГ-1 от инфекции ВПГ-2. Антитела класса IgG к ВПГ-1 образуются через шесть-восемь недель после первичного инфицирования вирусом простого герпеса 1 типа и указывают на предшествующий контакт с вирусом. Анализ может использоваться для определения статуса ВПГженщины до или во время беременности.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
903G_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Гликопротеин G ВПГ-1 связывается с реакционными лунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

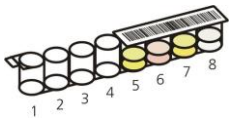
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **HSV-1 IgG** на печатной этикетке **HSV-1-G**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50x.

SYSTEM FLUID 1x 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 x.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

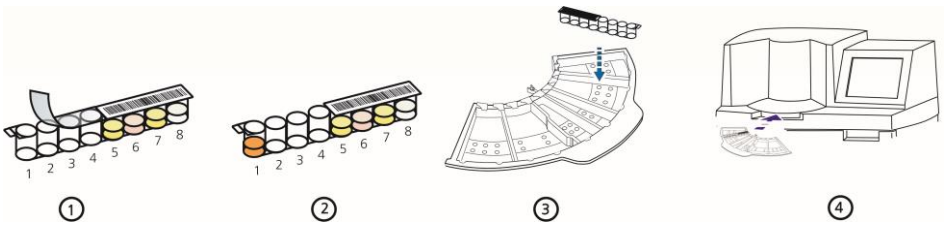
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания. Поскольку ВПГ-1 и ВПГ-2 иммунологически очень похожи, почти все антитела, образующиеся у инфицированного человека, перекрестно реактивны. Специфический для типа ВПГ гликопротеин G является исключением, поскольку данные антигены обоих вирусов достаточно сильно различаются. Тем не менее, гликопротеин G только индуцмрует образование антител класса IgG.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	181,7	181,7	100
	1:200	94.0	97.0	97
	1:400	49,3	48,0	103
	1:800	26,0	24,0	108
2	1:100	102,3	102,3	100
	1:200	57.8	61,0	95
	1:400	31,2	30,0	104
	1:800	17,8	15,0	119
3	1:100	117,2	117,2	100
	1:200	60,6	65,0	93
	1:400	33,5	33,0	102
	1:800	18,7	16,0	117

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 5,9 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	10,8	9,8
2	23,1	6,8
3	51,0	5,2

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	9,7	5,9
2	22,8	9,4
3	50,9	4,2

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 903G	Пол.	322	2	
Anti-HSV-1 IgG	Отр.	3	128	
		325	130	455

Чувствительность:	99.1%
Специфичность:	98.5%
Общая согласованность:	98.9 %

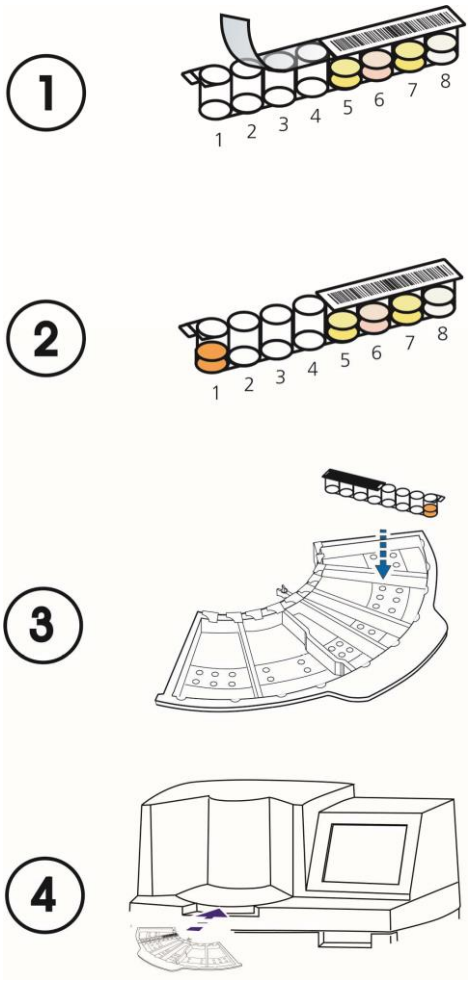
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Dwyer, E.D. and Cunningham, A.L., Herpes simplex and varicella-zoster virus infections, 2002, MJA 177(5):267 -73
2. Gardella, C. and Brown, Z.A., Managing genital herpes infections in pregnancy, 2007, Cleve Clin J Med 74 (3):217-224
3. Kimberlin, D.W., Neonatal Herpes Simplex Infection, 2004, Clin Microbiol Rev 17(1):1 -13
4. Ashley, L.A., Performance and use of HSV type-specific serology test kits, 2002, Herpes 9(2):38-45
5. Freedman, E. et al, Epidemiological, Clinical and Laboratory Aids for the Diagnosis of Neonatal Herpes - an Australian Perspective, 2004, Herpes 11(2):38-40
6. Choudhry, S. et al., Serological profile of HSV-2 in patients attending STI clinic: Evaluation of diagnostic utility of HSV-2 IgM detection, 2009, Indian J Pathol Microbiol 52(3):353-6

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 903G_IFU_EN_QM113226_2018-01-02_4*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

904G_5

ORG 904G Anti-HSV-2 IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-HSV-2 IgG для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgG к гликопротеину G (gG2) вируса простого герпеса 2 типа методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотки или плазмы человека образцов. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Обнаружение антител класса IgG к гликопротеину gG2 специфичного для типа ВПГ, позволяет отличить инфекцию ВПГ-1 от инфекции ВПГ-2. Антитела класса IgG к ВПГ-2 образуются через шесть-восемь недель после первичного инфицирования вирусом простого герпеса 2 типа и указывают на предшествующий контакт с вирусом. Анализ может использоваться для определения статуса ВПГ женщины до или во время беременности.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Гликопротеин G ВПГ-2 связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

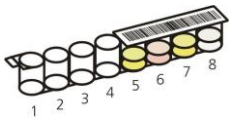
Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **HSV-2 IgG** на печатной этикетке **HSV-2-G**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

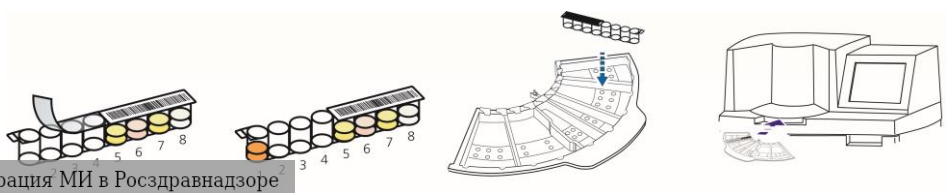
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены.

Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Поскольку ВПГ-1 и ВПГ-2 иммунологически очень похожи, почти все антитела, образующиеся у инфицированного человека, перекрестно реактивны. Специфический для типа ВПГ гликопротеин G является исключением, поскольку данные антигены обоих вирусов достаточно сильно различаются. Тем не менее, гликопротеин G только индуцмрует образование антител класса IgG.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	96,5	96,5	100
	1:200	48,8	50.0	98

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	25,5	25.0	102
	1:800	13,1	13,0	101
2	1:100	113,2	113,2	100
	1:200	62,7	63,0	100
	1:400	32,4	31,0	105
	1:800	17,0	16,0	106
3	1:100	203,1	203,1	100
	1:200	107,0	107,0	100
	1:400	52,6	53,0	99
	1:800	28,2	27,0	104

Предел обнаружения
Наименьшее количество обнаруживаемого аналита составляет: 4,5 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	13,1	2,6
2	26,3	2,3
3	75,9	4,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,3	7,8
2	26,1	7,0
3	72,9	9,7

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 904G	Пол.	40	3	
Anti-HSV-2 IgG	Отр.	2	393	
		42	396	438

Чувствительность:	95.2%

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

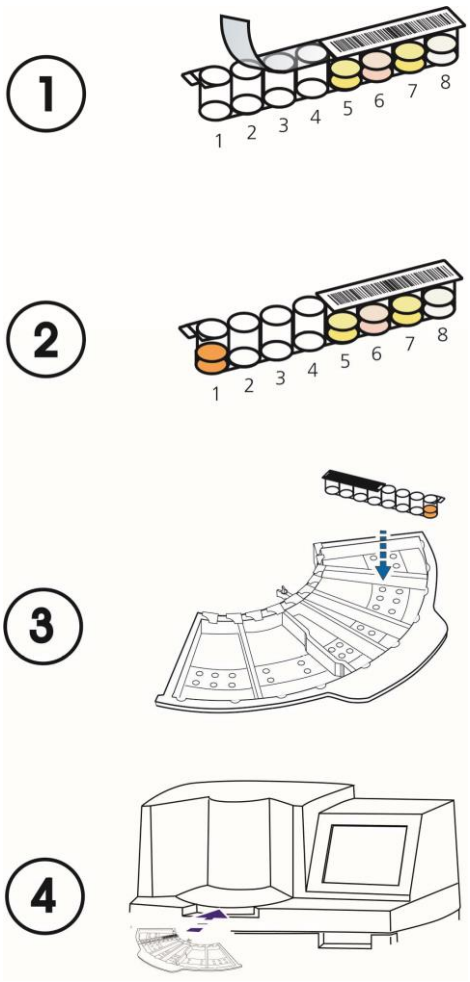
Специфичность:	99.2%
Общая согласованность:	93.9%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Dwyer, E.D. and Cunningham, A.L., Herpes simplex and varicella-zoster virus infections, 2002, MJA 177(5):267 -73
2. Gardella, C. and Brown, Z.A., Managing genital herpes infections in pregnancy, 2007, Cleve Clin J Med 74 (3):217-224
3. Kimberlin, D.W., Neonatal Herpes Simplex Infection, 2004, Clin Microbiol Rev 17(1):1 -13
4. Ashley, L.A., Performance and use of HSV type-specific serology test kits, 2002, Herpes 9(2):38-45
5. Freedman, E. et al, Epidemiological, Clinical and Laboratory Aids for the Diagnosis of Neonatal Herpes - an Australian Perspective, 2004, Herpes 11(2):38-40
6. Choudhry, S. et al., Serological profile of HSV-2 in patients attending STI clinic: Evaluation of diagnostic utility of HSV-2 IgM detection, 2009, Indian J Pathol Microbiol 52(3):353-6

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 904G_IFU_EN_QM113229_2018-01-02_4*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

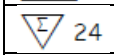
904MX_4

ORG 904MX Anti-HSV-2 IgM Abs.

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-HSV-2 IgM (с абсорбентом) для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgM к общему антигену вируса простого герпеса типа 2 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотки или плазмы человека образцов. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения. В состав тест-системы Alegria® для определения антител класса IgM к ВПГ-2 (с абсорбентом) входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ).
Выявление антител класса IgM к ВПГ-1 и ВПГ-2 важно в случаях подозрения на первичное инфицирование ВПГ. Тест может быть использован для подтверждения острой инфекции, которая была выявлена с помощью PCR. Кроме того, антитела класса IgM могут обнаруживаться в случаях рецидивирующей или хронической инфекции.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Антиген цельного вируса ВПГ-2 связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

Ревматоидный фактор (РФ) может влиять на результат определения антител класса IgM в серологии инфекционных заболеваний. Этого можно избежать, используя абсорбент РФ. В состав тест-системы Alegria® входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ). Поглощение происходит во время обработки образцов в анализаторе Alegria®. Подготовка или предварительное разведение образцов не требуется.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

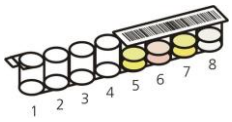
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **HSV-2 IgM Abs** на печатной этикетке **HSV-2-MX**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

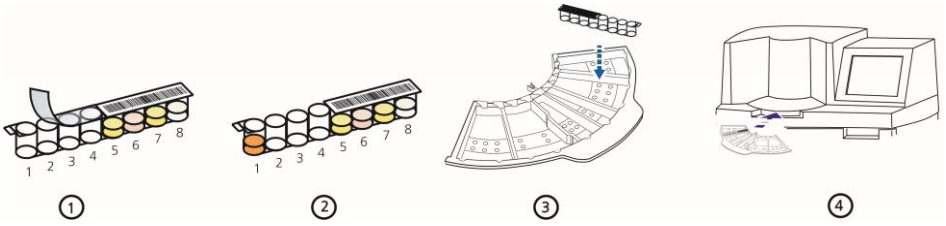
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены.

Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Поскольку ВПГ-1 и ВПГ-2 иммунологически очень похожи, почти все антитела, образующиеся у инфицированного человека, перекрестно реактивны. Специфический для типа ВПГ гликопротеин G является исключением, поскольку данные антигены обоих вирусов достаточно сильно различаются. Тем не менее, гликопротеин G только индуцирует образование антител класса IgG.

Линейность

Не применимо. Данный анализ является нелинейным количественным определением, т.к. буфер образца содержит абсорбент РФ.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Предел обнаружения
Наименьшее количество обнаруживаемого аналита составляет: 6,2 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	7,1	6,0
2	22,7	5,8
3	45,4	3,7

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	6,1	10,7
2	24,7	9,3
3	45,3	6,0

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 904MX	Пол.	5	0	
Anti-HSV-2 IgM Abs	Отр.	1	94	
		6	94	100

Чувствительность:	83.3%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	99.0 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

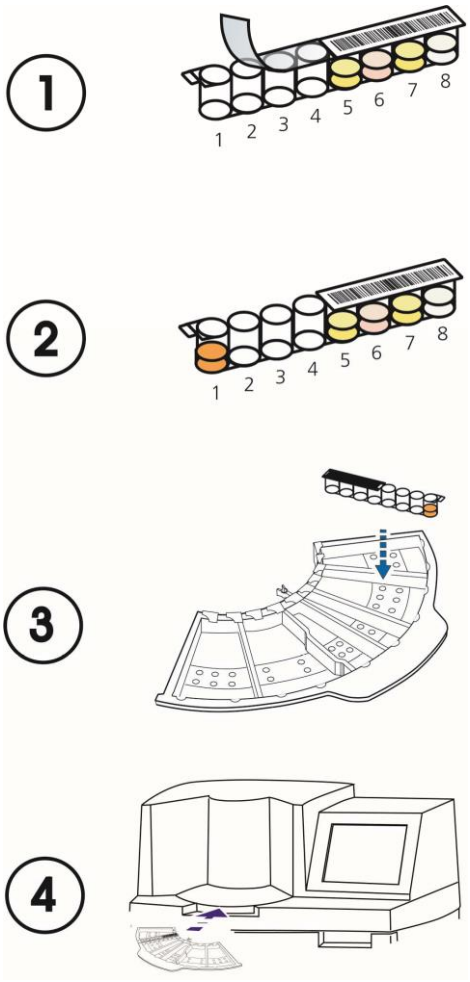
1. Dwyer, E.D. and Cunningham, A.L., Herpes simplex and varicella-zoster virus infections, 2002, MJA 177(5):267 -73
2. Gardella, C. and Brown, Z.A., Managing genital herpes infections in pregnancy, 2007, Cleve Clin J Med 74 (3):217-224
3. Kimberlin, D.W., Neonatal Herpes Simplex Infection, 2004, Clin Microbiol Rev 17(1):1 -13
4. Ashley, L.A., Performance and use of HSV type-specific serology test kits, 2002, Herpes 9(2):38-45
5. Freedman, E. et al, Epidemiological, Clinical and Laboratory Aids for the Diagnosis of Neonatal

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Herpes - an Australian Perspective, 2004, Herpes 11(2):38-40
6. Choudhry, S. et al., Serological profile of HSV-2 in patients attending STI clinic: Evaluation of diagnostic utility of HSV-2 IgM detection, 2009, Indian J Pathol Microbiol 52(3):353-6

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 904MX_IFU_EN_QM113231_2018-01-02_3*
Причина пересмотра: *Ограничения: дообавлена новая информация*



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

905G_4

ORG 905G Anti-HSV-1/2 IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-HSV-1/2 IgG для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgG к общим антигенам вируса простого герпеса 1 и 2 типа методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотки или плазмы человека образцов. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Антитела IgG к общим антигенам ВПГ-1 и ВПГ-2 могут использоваться для определения иммунного статуса человека в отношении инфекции ВПГ. Данный анализ представляет интерес для сероэпидемиологических исследований.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Антиген цельного вируса ВПГ-1 и ВПГ-2 связывается с реаакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

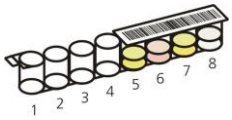
поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **HSV-1/2 IgG** на печатной этикетке **HSV-G**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

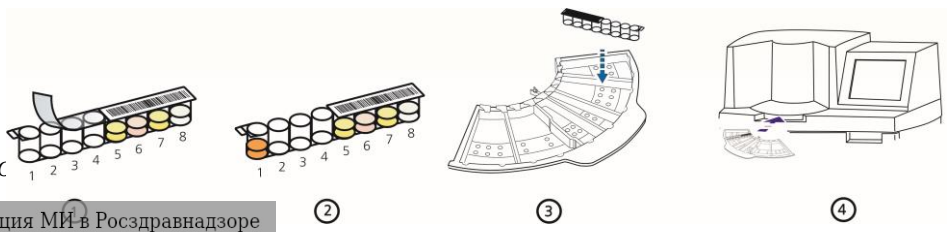
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	188,6	188,6	100
	1:200	99,9	99,0	101
	1:400	49,8	50.0	100
	1:800	25,7	25.0	103
2	1:100	167,1	167,1	100
	1:200	78,7	81,0	97
	1:400	40.2	40,0	101
	1:800	20,2	20,0	101

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3	1:100	203,5	203,5	100
	1:200	103,3	103,0	100
	1:400	51,6	52,0	99
	1:800	26,3	26,0	101

Предел обнаружения
Наименьшее количество обнаруживаемого аналита составляет: 6,6 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	4,2	7,5
2	20,2	2,0
3	93.0	7,7

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	4,6	8,7
2	20,2	5,0
3	82,4	8,1

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 905G	Пол.	345	5	
Anti-HSV-1/2 IgG	Отр.	0	113	
		345	118	463

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	95.8%
Общая согласованность:	98.9 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

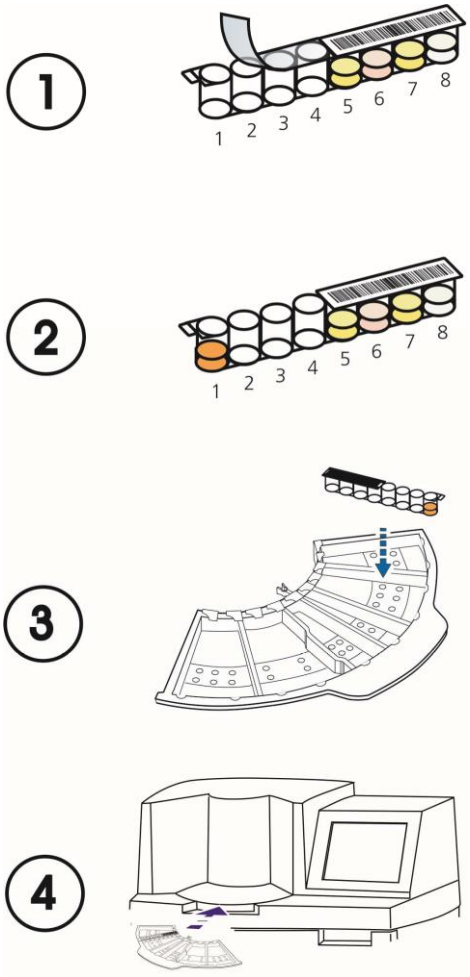
1. Dwyer, E.D. and Cunningham, A.L., Herpes simplex and varicella-zoster virus infections, 2002, MJA 177(5):267 -73

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2. Gardella, C. and Brown, Z.A., Managing genital herpes infections in pregnancy, 2007, Cleve Clin J Med 74 (3):217-224
3. Kimberlin, D.W., Neonatal Herpes Simplex Infection, 2004, Clin Microbiol Rev 17(1):1 -13
4. Ashley, L.A., Performance and use of HSV type-specific serology test kits, 2002, Herpes 9(2):38-45
5. Freedman, E. et al, Epidemiological, Clinical and Laboratory Aids for the Diagnosis of Neonatal Herpes - an Australian Perspective, 2004, Herpes 11(2):38-40
6. Choudhry, S. et al., Serological profile of HSV-2 in patients attending STI clinic: Evaluation of diagnostic utility of HSV-2 IgM detection, 2009, Indian J Pathol Microbiol 52(3):353-6

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 905G_IFU_EN_QM113232_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

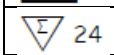
905MX_3

ORG 905MX Anti-HSV-1/2 IgM Abs.

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-HSV-1/2 IgM (с абсорбентом) для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgM к общему антигену вируса простого герпеса 1 и 2 типа методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотки или плазмы человека образцов. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения. В состав тест-системы Alegria® для определения антител класса IgM к ВПГ 1 и 2 типа (с абсорбентом) входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ).
Выявление антител класса IgM к ВПГ-1 и ВПГ-2 важно в случаях подозрения на первичное инфицирование ВПГ. Тест может быть использован для подтверждения острой инфекции, которая была выявлена с помощью PGP. Кроме того, антитела класса IgM могут обнаруживаться в случаях рецидивирующей или хронической инфекции.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
905MX_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Антиген цельного вируса ВПГ-1 и ВПГ-2 связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.
Ревматоидный фактор (РФ) может влиять на результат определения антител класса IgM в серологии инфекционных заболеваний. Этого можно избежать, используя абсорбент РФ. В состав тест-системы Alegria® входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ). Поглощение происходит во время обработки образцов в анализаторе Alegria®. Подготовка или предварительное разведение образцов не требуется.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

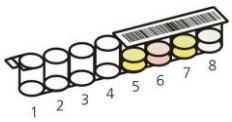
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **HSV-1/2 IgM Ab** на печатной этикетке **HSV- MX**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 10-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Не применимо. Данный анализ является нелинейным количественным определением, т.к. буфер образца содержит абсорбент РФ.

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 4,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	9,1	8,3
2	29,8	4,3
3	65,9	2,6

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	5,1	8,1
2	30,1	8,8
3	66,0	4,4

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

			Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 905MX		Пол.	6	0	
Anti-HSV-1/2 Abs.	IgM	Отр.	1	102	
			7	102	109

Чувствительность:	85.7%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	99.1%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Dwyer, E.D. and Cunningham, A.L., Herpes simplex and varicella-zoster virus infections, 2002, MJA 177(5):267 -73
2. Gardella, C. and Brown, Z.A., Managing genital herpes infections in pregnancy, 2007, Cleve Clin J Med 74 (3):217-224
3. Kimberlin, D.W., Neonatal Herpes Simplex Infection, 2004, Clin Microbiol Rev 17(1):1-13
4. Ashley, L.A., Performance and use of HSV type-specific serology test kits, 2002, Herpes 9(2):38-45
5. Freedman, E. et al, Epidemiological, Clinical and Laboratory Aids for the Diagnosis of Neonatal Herpes - an Australian Perspective, 2004, Herpes 11(2):38-40
6. Choudhry, S. et al., Serological profile of HSV-2 in patients attending STI clinic: Evaluation of diagnostic utility of HSV-2 IgM detection, 2009, Indian J Pathol Microbiol 52(3):353-6

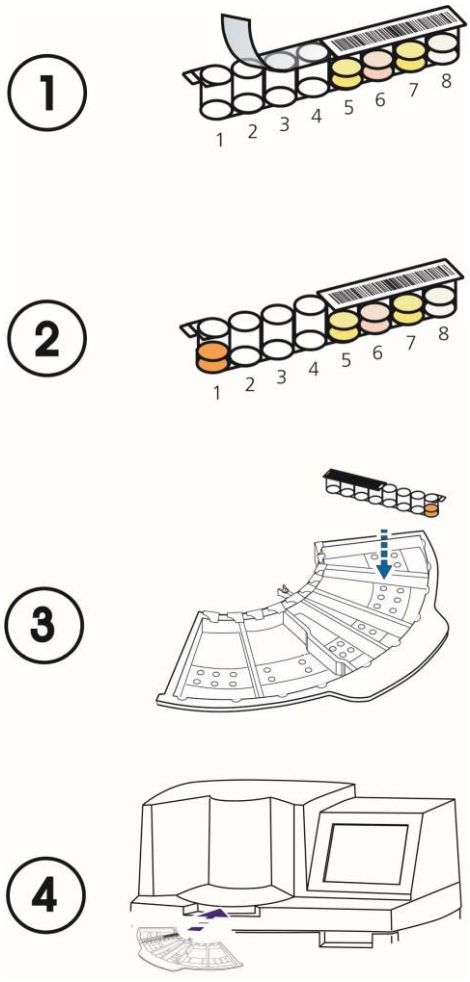
Уведомление для пользователя (Европейский Союз):

Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Предыдущая версия: *ORG 905MX_IFU_EN_QM 113234_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

905GL_3

ORG 905GL Anti-HSV-1/2 IgG Liquor

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-HSV-1/2 IgG Liquor для анализатора Alegria® предназначена для сравнительного количественного определения антител класса IgG к вирусу простого герпеса I и II типа методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека, или спинномозговой жидкости. Данный количественный анализ предназначен для определения синтеза антител IgG в центральной нервной системе. Он не подходит для обнаружения антител класса IgG к вирусу простого герпеса I и II типа только в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Выявление продукции патоген-специфических антител в спинномозговой жидкости играет определенную роль в диагностике острых неврологических инфекций. Неврологические воспалительные процессы могут возникать в виде редких осложнений инфекции вируса простого герпеса, в частности ВПГ-ассоциированный энцефалит, а также менингит, периферический парез лицевого нерва, миелит и радикулит. Интратекальная продукция антител класса IgG в ВПГ также может обнаруживаться при хронических воспалительных процессах, таких как рассеянный склероз.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
905GL_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Антиген цельного вируса ВПГ-1 и ВПГ-2 связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
Образец спинномозговой жидкости и соответствующий образец сыворотки от одного и того же пациента должны быть исследованы в одной и той же серии испытаний. Для параллельного проведения обоих анализов необходимы две тест-полоски - одна для спинномозговой жидкости и одна для сыворотки.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

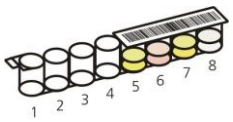
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **HSV1/2 SerCSF IgG** на печатной этикетке: **HSV-L-G**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

Руководство пользователя анализатора Alegria® Мини-DVD Alegria®

1 Сертификат анализа

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетки на 10 мкл, пипетки с варьируемым объемом дозирования на 10-100 мкл и 100-1000 мкл
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы крови и спинномозговой жидкости должны быть отобраны у пациента в один и тот же день.
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Образцы должны быть чистыми и негемолизированными.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Избегайте повторного замораживания и размораживания образцов. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием образцов.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Для проведения данного анализа образцы спинномозговой жидкости и сыворотки или плазмы крови должны иметь схожую концентрацию белка.
- Поскольку концентрация спинномозговой жидкости намного ниже, чем сыворотки или плазмы крови, необходимо предварительное разбавление образцов сыворотки.
- Для получения значений в пределах диапазона измерения предварительное разбавление образцов сыворотки/плазмы может быть различным для каждого параметра в зависимости от серопревалентности.

Образцы спинномозговой жидкости также могут быть предварительно разбавлены или использованы в меньшем объеме, если предполагается наличие высокой концентрации антител.

- Рекомендуется предварительно разбавить образец сыворотки или плазмы крови готовым к использованию буферным раствором для промывки.

Приготовление образцов зависит от панели образцов и может отличаться в разных лабораториях. Эмпирические значения для предварительного разведения (сыворотка/плазма) и объема (СМЖ)

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	Предварительное разведение	Сыворотка/плазма+Буферный раствор для промывки	СМЖ
ORG 901 GL Тест-система для определения антител класса IgG к капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG905GL Тест-система для обнаружения антител класса IgG к вирусу простого герпеса I и II типа	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG 909GL Тест-система для определения антител класса IgG к вирусу кори	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG911GL Тест-система для определения антител класса IgG к Borrelia	1:4	20 мкл + 60 мкл	60 мкл
ORG 911 ML Тест-система для определения антител класса IgM к Borrelia	1:4	20 мкл + 60 мкл	60 мкл
ORG914GL Тест-система для определения антител класса IgG к вирусу ветряной оспы	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG919GL Тест-система для определения антител класса IgG к краснухе	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Используйте одну тест полоску Alegria® для СМЖ и одну для сыворотки. Различия в обработке:

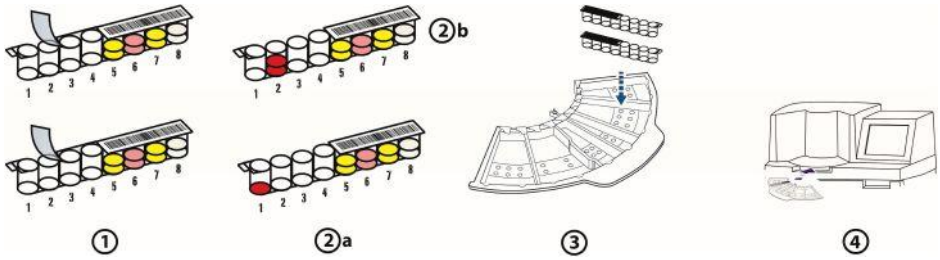
(2a) Тест-полоска для сыворотки: При помощи пипетки перенесите 10 мкл предварительно разбавленного образца сыворотки или плазмы на дно лунки 1.

(2b) Тест-полоска для спинномозговой жидкости: При помощи пипетки перенесите 30 мкл неразбавленной СМЖ на дно лунки 2.

(2) Установите полоску в системный лоток SysTray

(3) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 10-200 ед./мл.

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 10 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, образцы, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для промывки.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов сыворотки по результатам 20 определений за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов сыворотки по результатам 2 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	9,1	13,0
2	33,2	5,9
3	170,8	7,9

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	9,1	13,2

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2	35,3	4,1
3	155,8	7,8

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов сыворотки/плазмы крови человека. Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина).
При вирусных инфекциях вируса Эпштейна-Барра, цитомегаловируса или вируса ветряной оспы интерференции не наблюдалось. Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ
С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет результатов выполняется автоматически.

РАСЧЕТ ИНДЕКСА АНТИТЕЛ (ИА)
Для расчета индекса антител требуется проведение анализа альбумина и общего IgG в сыворотке и в СМЖ альтернативными методами, которые не включены в настоящую тест-систему. Концентрацию общего IgG и альбумина следует измерять методами, которые обычно используются в лабораториях, исследующих неврологические заболевания.

Как правило, для определения концентрации антител в образцах достаточно использования неразбавленной СМЖ и предварительного разбавленного образца сыворотки в пропорции 1:4, как рекомендовалось ранее. Иногда результаты анализа могут превышать верхний предел диапазона измерений (> 200 Ед/мл) для отдельных образцов. Следует провести повторный анализ таких образцов с более высокими разведениями для правильного расчета концентрации антител. При использовании образцов СМЖ можно пипетировать меньшие объемы неразбавленной СМЖ в лунку 2 или провести предварительное разбавление готовым к использованию буферным раствором для промывки.
Возможные предварительные разведения и объемы пипетирования, а также полученные факторы разведения приведены в таблице разведения ниже:

образец	Предварительное разведение	Образец + Буферный раствор для промывки	Лунка 1: мкл	Лунка 2: мкл	Коэффициент разведения
Сыворотк	1:4	20 мкл + 60 мкл	10 мкл.	—	381
Сыворотк	1:8	10 мкл + 70 мкл	10 мкл	—	762
Сыворотк	1:16	10 мкл + 150 мкл	10 мкл	—	1524
Сыворотк	1:32	10 мкл + 310 мкл	10 мкл	—	3048
Сыворотк	1:64	10 мкл + 630 мкл	10 мкл	—	6096
Сыворотк	1:128	10 мкл + 1270 мкл	10 мкл	—	12192
образец	Предварительное разведение	Образец + Буферный раствор для промывки	Лунка 1: мкл	Лунка 2: мкл	Коэффициент разведения
СМЖ	—	—	—	60 мкл	4
СМЖ	—	—	—	30 мкл	7
СМЖ	—	—	—	15 мкл	13
СМЖ	1:2	50 мкл + 50 мкл	—	60 мкл	8
СМЖ	1:4	20 мкл + 60 мкл	—	60 мкл	16

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СМЖ	1:8	10 мкл + 70 мкл	—	60 мкл	32
СМЖ	1:16	10 мкл + 150 мкл	—	60 мкл	64
СМЖ	1:32	10 мкл + 310 мкл	—	60 мкл	128

Расчет индекса антител:

Расчет индекса антител (ИА) позволит получить информацию о синтезе интеракальных антител, специфических для ВПГ типа 1 и 2 (т.е. антител, вырабатываемых в СМЖ). Обычно индекс антител варьируется от 0,6 до 1,3 (см. интерпретация результатов).

Для расчета ИА в первую очередь необходимы концентрации антител класса IgG, специфических для ВПГ типа 1 и 2 в сыворотке и в спинномозговой жидкости (СМЖ) с поправкой на факторы разведения. С их помощью определяется специфическое соотношение IgG (QIgG Spec):

$Q_{IgG\ Spec} = (IgG_{CSF\ spec}) / (IgG_{\ serum\ spec})$

= (ЕД/мл $_{СМЖ}$ х фактор разведения) / (ЕД/мл $_{сыворотка}$ х фактор разведения)

= (ЕД/мл СМЖ х фактор разведения) / (ЕД/мл сыворотка х фактор разведения) см. таблицу с факторами разведения

См. таблицу с факторами разведения

Определение ИА: $Q_{IgG\ Spec} / Q_{IgG\ (1)}$

($Q_{IgG} = (IgG_{СМЖ})/ (IgG_{\ сыворотка})$) = соотношение общего IgG. Требуется отдельное измерение другими способами!

Клиническая поправка:

Соотношение ИА (1) учитывает изменения в барьерной функции ликвора и крови, но не учитывает большого локального синтеза полиспецифических IgG в ЦНС, что приводит к повышению $Q_{\ IgG}$ и к получению ложно низких значений ИА.

Поэтому для более надежной клинической диагностики различных неврологических заболеваний важно проводить различие между

a) инфекциями с моноспецифической интратекальной иммунной реакцией, которая указывает на антиген-возбудитель инфекции, и

b) заболеваниями, при которых антитела синтезируются как вторичная полиспецифическая иммунная реакция в результате неспецифической стимуляции 8-клеточных линий.

Во избежание таких ложноотрицательных результатов при стандартном расчете ИА (1), Х. Райбер предложил использовать пороговую функцию (полученную на основе эмпирических клинических данных), которая должна использоваться для скорректированного расчета ИА(с дополнительным требованием измерения альбумина:

$Q_{A,b} = [Alb_{СМЖ}] / [Alb_{сыворотка}]$):

$$Q_{lim}\ (IgG) = 0.93 \times \sqrt{(Q_{Alb})^2 + 6 \times 10^{-6}} - 1.7 \times 10^{-3}$$

В зависимости от этого порога расчет ИА имеет различие между двумя случаями:

$ИА = Q_{IgG\ Spec} / Q_{IgG}$ (если $Q_{IgG} < Q_{LIM\ (IgG)}$)) (моноспецифичная иммунная реакция) (2)

$ИА = Q_{IgG\ Spec} / Q_{LIM\ (IgG)}$ (если $Q_{IgG} > Q_{LIM\ (IgG)}$)) (полиспецифичная иммунная реакция) (3)

Уравнение 2 используется в том случае, если Q_{IgG} обозначает барьерные условия, относящиеся к преимущественно полученной из крови белковой фракции в СМЖ без значительного локального полиспецифического синтеза IgG в ЦНС, , т.е. если $Q_{IgG} < Q_{LIM\ (IgG)}$

Уравнение 3 используется, если $Q_{IgG} > Q_{LIM\ (IgG)}$

Для упрощения вычислений можно использовать таблицу на компьютере. Компания «ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» подготовила такую таблицу в Excel и по запросу предоставляет ее заинтересованным клиентам, проводящим анализы Alegria® с использованием ликвора.

Интерпретация результатов

0.6 < ИА < 1.3 - нормальный диапазон

1.3 < ИА < 1.5 - неопределенный результат

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ИА > 1.5 интратекальный синтез антител, специфических для ВПГ 1 и 2 типа

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Кроме того, решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Для образцов сыворотки крови или СМЖ со значениями ниже нижней границы диапазона измерений (зафиксированный результат теста <10 Ед/мл), индекс антител не может быть рассчитан. В зависимости от совокупности результатов (например, повышенные значения антител в СМЖ) можно рассмотреть возможность проведения повторного анализа с более низким разведением образца сыворотки крови человека. Значения ИА <0.6 свидетельствуют об ошибке метода. Все промежуточные результаты должны быть проверены на достоверность.

Приведенные выше референсные диапазоны соответствуют положениям Х. Райбера и должны рассматриваться только как рекомендации. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Результат ИА в пределах нормы не исключает наличие инфекции. Если образец взят на ранней стадии заболевания, индекс антител может находиться в пределах нормы. Повышенный ИА не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания. Высокие значения ИА могут сохраняться в течение многих лет после перенесенной инфекции.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		ИА > 1,5	ИА < 1,5	
ORG 905GL	ИА > 1,5	9	1	
Anti-HSV-1/2 IgG	ИА < 1,5	0	50	
		9	51	60

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	98.0%
Общая согласованность:	98.3 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. http://www.horeiber.de/cerebrospinal.html
2. H. Reiber, J. B. Peter: Cerebrospinal Fluid Analysis: disease related data patterns and evaluation programs 2001, J. Neurol. Sei. 184: 101-122
3. Jarius.S., Eichhorn,P., Wildemann,B., and Wick,M., Usefulness of antibody index assessment in cerebrospinal fluid from patients negative for total-1 gG oligoclonal bands. Fluids Barriers.CNS. 2012. 9: 14.

7. Denne,C., Kleines,M., Dieckhofer,A., Ritter,K., Scheithauer,S., Merz,U., and Hausler,M., Intrathecal synthesis of anti-viral antibodies in pediatric patients. Eur J Paediatr.Neurol. 2007.11: 29-34.

4. Borman,M., Intrathecal IgG synthesis: a resistant and valuable target for future multiple sclerosis treatments. Mult.Scier.Int 2015. 2015: 296184.
5. Jacobi,C., Lange,P., and Reiber,H., Quantitation of intrathecal antibodies in cerebrospinal fluid of subacute sclerosing panencephalitis, herpes simplex encephalitis and multiple sclerosis: discrimination between microorganism-driven and polyspecific immune response. J Neuroimmunol. 2007. 187: 139-146.
6. Marcus,J.F. and Waubant,E.L., Updates on clinically isolated syndrome and diagnostic criteria for multiple sclerosis. Neurohospitalist. 2013. 3: 65-80.
7. Dwyer, E.D. and Cunningham, A.L., Herpes simplex and varicella-zoster virus infections, 2002, MJA 177 (5): 267-73

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8. Gardella, C. and Brown, Z.A., Managing genital herpes infections in pregnancy, 2007, Cleve Clin J Med 74 (3):217-224
13. Kimberlin, D.W., Neonatal Herpes Simplex Infection, 2004, Clin Microbiol Rev 17(1):1 -13
14. Ashley, L.A., Performance and use of HSV type-specific serology test kits, 2002, Herpes 9(2):38-45
15. Freedman, E. et al, Epidemiological, Clinical and Laboratory Aids for the Diagnosis of Neonatal Herpes - an Australian Perspective, 2004, Herpes 11(2):38-40

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 905GL_IFU_EN_QM152165_2017-03-14_2.1*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

908G_5

ORG 908G Anti-Mumps Virus IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Mumps Virus IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к вирусу эпидемического паротита методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Тесты для обнаружения различных классов иммуноглобулина способствуют дифференциации острых первичных (IgM), перенесенных (IgG) инфицирований вирусом эпидемического паротита, а также помогают определить иммунный статус пациента. Антитела класса IgG к вирусу паротита после заражения или после успешной вакцинации сохраняются на всю жизнь, и обнаружение антител данного класса используется для демонстрации иммунитета. Однако, антитела также могут исчезнуть через длительное время без дальнейшего контакта с патогеном.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
908G_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Очищенные частицы инактивированного вируса эпидемического паротита (аттенуированный штамм Enders) и связываются с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

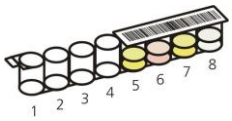
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Mumps IgG*** на печатной этикетке ***Mumps-G***

WASH 1 х 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.
Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.
Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	143,1	143,1	100
	1:200	94,5	92.0	103
	1:400	49,2	46,0	107
	1:800	25,6	23,0	112
2	1:100	103,8	103,8	100
	1:200	63,1	61,0	103
	1:400	32,2	31,0	105
	1:800	16,3	15,0	107

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3	1:100	112,5	112,5	100
	1:200	59,5	56,0	106
	1:400	27,1	28,0	97
	1:800	13,5	14,0	96

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 4,5 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	8,2	1,9
2	28,5	2,8
3	138,7	6,1

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	7,4	3,9
2	26,4	1,5
3	121,0	3,3

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 908G	Пол.	68	1	
Anti-Mumps Virus IgG	Отр.	0	42	
		68	43	111

]

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	97.7%
Общая согласованность:	99.1%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

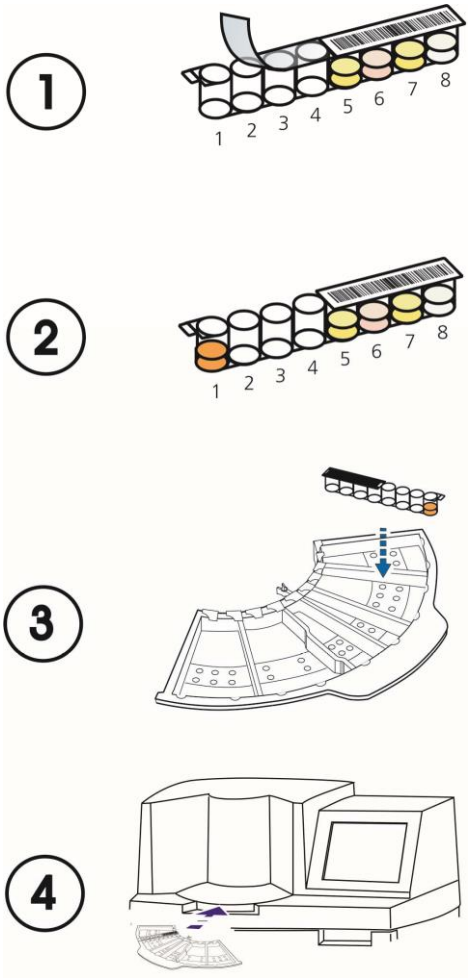
1. S. N. Senanayake. Mumps: a resurgent disease with protean manifestations. Med J Aust. 189 (8):456-459, 2008.
2. A. Hviid, S. Rubin, and K. Muhlemann. Mumps. Lancet 371 (9616):932-944, 2008.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. G. H. Dayan, M. P.Quinlisk, A. A. Parker, A. E. Barskey, M. L. Harris, J. M. Schwartz, K. Hunt, C. G. Finley, D. P. Leschinsky, A. L. O'Keefe, J. Clayton, L. K. Kightlinger, E. G. Dietle, J. Berg, C. L. Kenyon, S. T. Goldstein, S. K. Stokley, S. B. Redd, P. A. Rota, J. Rota, D. Bi, S. W. Roush, C. B. Bridges, T.A. Santibanez, U. Parashar, W. J. Bellini, and J. F. Seward. Recent resurgence of mumps in the United States. N Engl J Med 358 (15): 1580 -1589,2008.
4. R. K. Gupta, J. Best, and E. MacMahon. Mumps and the UK epidemic 2005. BMJ 330 (7500):1132-1135, 2005.
5. T. Hatchette, R. Davidson, S. Clay, J. Pettipas, J. Leblanc, S. Sarwal, M. Smieja, and K. Forward. Laboratory diagnosis of mumps in a partially immunized population: The Nova Scotia experience. Can.J Infect Dis Med Microbiol 20 (4):e157-e162, 2009.
6. K. E. Vandana, G. Arunkumar, and I. Bairy. Role of laboratory in rapid diagnosis of atypical mumps. Braz.J Infect Dis 14 (2):201-202, 2010.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 908G_IFU_EN_QM113243_2015-05-29_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

908MX_4

ORG 908MX Anti-Mumps Virus IgM Abs.

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Mumps Virus IgM (с абсорбентом) предназначена для количественного определения антител класса IgM к вирусу эпидемического паротита методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения. В состав тест-системы Alegria® для определения антител класса IgM к вирусу эпидемического паротита (с абсорбентом) входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ).

Тесты для обнаружения различных классов иммуноглобулина способствуют дифференциации острых первичных (IgM), перенесенных (IgG) инфицирований вирусом эпидемического паротита, а также помогают определить иммунный статус пациента. Антитела класса IgG к вирусу паротита после заражения или после успешной вакцинации сохраняются на всю жизнь, и обнаружение антител данного класса используется для демонстрации иммунитета. Однако, антитела также могут исчезнуть через длительное время без дальнейшего контакта с патогеном.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
908MX_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Очищенные частицы инактивированного вируса эпидемического паротита (аттенуированный штамм Enders) и связываются с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.
Ревматоидный фактор (РФ) может влиять на результат определения антител класса IgM в серологии инфекционных заболеваний. Этого можно избежать, используя абсорбент РФ. В состав тест-системы Alegria® входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ). Поглощение происходит во время обработки образцов в анализаторе Alegria®. Подготовка или предварительное разведение образцов не требуется.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.
- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 %

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

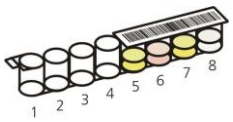
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Mumps IgM Abs*** на печатной этикетке ***Mumps- MX***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.
Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Не применимо. Данный анализ является нелинейным количественным определением, т.к. буфер образца содержит абсорбент РФ.

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 6,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,0	5,3
2	24,0	6,5
3	28,7	3,9

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,0	5,8
2	23,4	7,0
3	33,9	13,9

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 908MX	Пол.	7	0	
Anti-Mumps Virus IgM Abs.	Отр.	1	106	
		8	106	114

]

Чувствительность:	87.5%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	99.1%

° один положительный, один отрицательный результат во втором контрольном анализе методом ИФА

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. S. N. Senanayake. Mumps: a resurgent disease with protean manifestations. Med J Aust. 189 (8):456-459, 2008.
2. A. Hviid, S. Rubin, and K. Muhlemann. Mumps. Lancet 371 (9616):932-944, 2008.
3. G. H. Dayan, M. P.Quinlisk, A. A. Parker, A. E. Barskey, M. L. Harris, J. M. Schwartz, K. Hunt, C. G. Finley, D. P. Leschinsky, A. L. O'Keefe, J. Clayton, L. K. Kightlinger, E. G. Dietle, J. Berg, C. L. Kenyon, S. T. Goldstein, S. K. Stokley, S. B. Redd, P. A. Rota, J. Rota, D. Bi, S. W. Roush, C. B. Bridges, T.A. Santibanez, U. Parashar, W. J. Bellini, and J. F. Seward. Recent resurgence of mumps in the United States. N Engl J Med 358 (15): 1580 -1589,2008.
4. R. K. Gupta, J. Best, and E. MacMahon. Mumps and the UK epidemic 2005. BMJ 330 (7500):1132-1135, 2005.
5. T. Hatchette, R. Davidson, S. Clay, J. Pettipas, J. Leblanc, S. Sarwal, M. Smieja, and K. Forward.

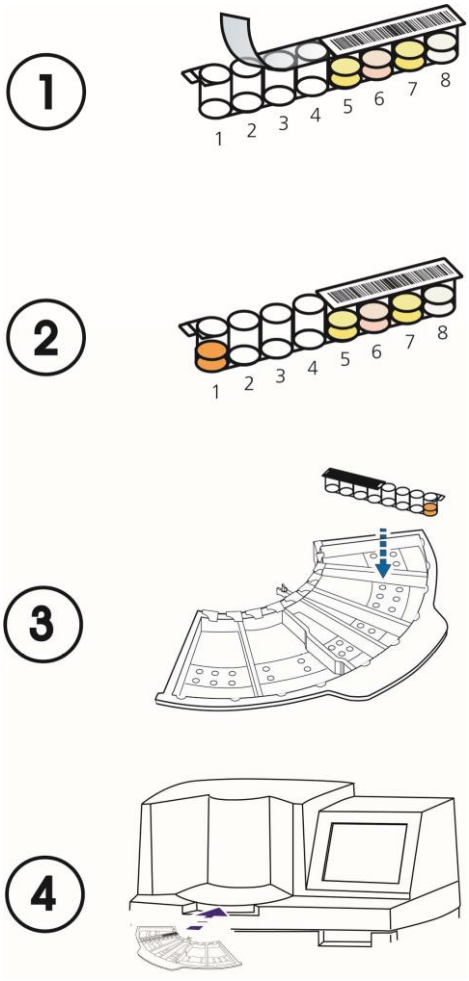
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Laboratory diagnosis of mumps in a partially immunized population: The Nova Scotia experience. Can.J Infect Dis Med Microbiol 20 (4):e157-e162, 2009.

6. K. E. Vandana, G. Arunkumar, and I. Bairy. Role of laboratory in rapid diagnosis of atypical mumps. Braz.J Infect Dis 14 (2):201-202, 2010.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 908MX_IFU_EN_QM 113245_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

909G_5

ORG 909G Anti-Measles Virus IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Measles Virus IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к вирусу кори методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

В обычной диагностической лаборатории определение иммунного статуса проводится путем серологического выявления вирус-специфических антител класса IgM или IgG. Вирус-специфические антител класса IgM имеют большое значение для подтверждения острой инфекции вируса кори. В очень редких случаях заражения после вакцинации титры антител класса IgM могут быть ниже предела обнаружения. В подобных случаях сероконверсия или значительное повышение титра антител класса IgG полезно для подтверждения диагноза. Антитела класса IgG к вирусу кори после перенесенного заболевания или вакцинации сохраняются на протяжении всей жизни. Определение антител класса IgG используется для подтверждения наличия иммунитета к данному вирусу.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
8°C 2°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
909G_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Очищенные частицы инактивированного вируса кори (аттенуированный штамм Edmonston) связываются с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

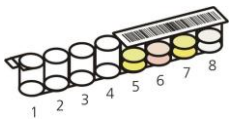
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Measl IgG*** на печатной этикетке ***Measl-G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международному эталонному препарату ВОЗ 97/648 для антител класса IgG к вирусу кори.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-5000 мМЕ/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 250 мМЕ/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 200 мМЕ/мл.
Пороговое значение	200- 250 мМЕ/мл.
Положительный результат	> 250 мМЕ/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		мМЕ/мл	мМЕ/мл	(%)
1	1:100	2791,0	2791,0	100
	1:200	1356,0	1354,0	100
	1:400	725,0	677,0	107
	1:800	304,0	339,0	90
2	1:100	4516,0	4516,0	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	2231,0	2107,0	106
	1:400	1110,0	1053,0	105
	1:800	430,0	527,0	82
3	1:100	693,0	693,0	100
	1:200	345,0	346,0	100
	1:400	165,0	173,0	96
	1:800	90,0	86,0	104

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 15 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, мМЕ/мл.	КВ, %
1	86,6	5,0
2	194,3	7,0
3	3386,2	5,2

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	81,9	5,8
2	230,5	9,6
3	3679,2	3,3

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 909G	Пол.	312	1	
Anti-Measles Virus IgG	Отр.	2	39	
		314	40	354

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

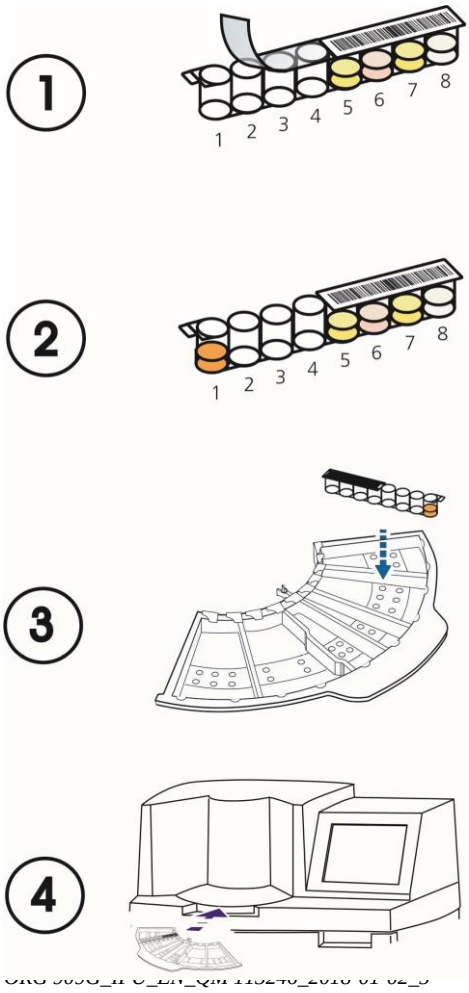
Чувствительность:	99.4%
Специфичность:	97.5%
Общая согласованность:	99.2%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Sabella C: Measles: not just a childhood rash. Cleve Clin J Med 2010, 77:207-213.
2. Centere for Disease Control and Prevention: Recommendations from an Ad Hoc Meeting of the WHO Measles and Rubella Laboratory Network (LabNet) on Use of Alternative Diagnostic Samples for Measles and Rubella Surveillance. Morbidity Mortality Weekly Report 2008, 57:657-660.
3. Yanagi Y, Takeda M, Ohne S: Measles virus: cellular receptors, tropism and pathogenesis J Gen.Virol. 2006, 87:2767-2779.
4. Mosquera MM, de OF, Gallardo V, Cuenca L, Morales M, Sanchez-Yedra W, Cabezas T, Hernandez JM, Echevarria JE: Evaluation of diagnostic markers for measles virus infection in the context of an outbreak in Spain
5. J Clin Microbiol 2005, 43:5117-5121.
6. Bellini WJ, Helfand RF: The challenges and strategies for laboratory diagnosis of measles in an international setting. J Infect Dis 2003, 187 Suppl 1:S283-S290.
7. Young VA, Rail GF: Making it to the synapse: measles virus spread in and among neurons. Curr Top.Microbiol Immunol 2009, 330:3-30.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 909G_IFU_EN_QM113246_2014-06-26_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

909MX_4

ORG 909MX Anti-Measles Virus IgM Abs.

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Measles Virus IgM (с абсорбентом) предназначена для количественного определения антител класса IgM к вирусу кори методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения. В состав тест-системы Alegria® для определения антител класса IgM к вирусу кори (с абсорбентом) входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ).

В обычной диагностической лаборатории определение иммунного статуса проводится путем серологического выявления вирус-специфических антител класса IgM или IgG. Вирус-специфические антител класса IgM имеют большое значение для подтверждения острой инфекции вируса кори. В очень редких случаях заражения после вакцинации титры антител класса IgM могут быть ниже предела обнаружения. В подобных случаях сероконверсия или значительное повышение титра антител класса IgG полезно для подтверждения диагноза. Антитела класса IgG к вирусу кори после перенесенного заболевания или вакцинации сохраняются на протяжении всей жизни. Определение антител класса IgG используется для подтверждения наличия иммунитета к данному вирусу.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
909MX_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Очищенные частицы инактивированного вируса кори (аттенуированный штамм Edmonston) связываются с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.
Ревматоидный фактор (РФ) может влиять на результат определения антител класса IgM в серологии инфекционных заболеваний. Этого можно избежать, используя абсорбент РФ. В состав тест-системы Alegria® входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ). Поглощение происходит во время обработки образцов в анализаторе Alegria®. Подготовка или предварительное разведение образцов не требуется.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

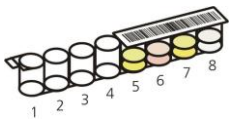
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Measl IgM Ab*** на печатной этикетке ***Measl- MX***

WASH 1 х 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

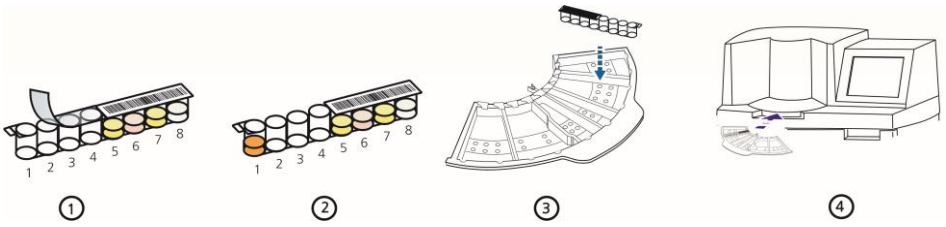
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность
Не применимо. Данный анализ является нелинейным количественным определением, т.к. буфер образца содержит абсорбент РФ.

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 1,9 ед/мл.

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	13,8	4,4
2	23,3	8,1
3	163,1	4,9

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	11,3	9,2
2	21,1	3,7
3	131,1	11,5

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

		Клинический диагноз		
		Пол.	Отр.	
ORG 909MX	Пол.	8	0	
Anti-Measles Virus IgM	Отр.	1	118	
		9	118	127

Чувствительность:	88.9%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	99.2%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

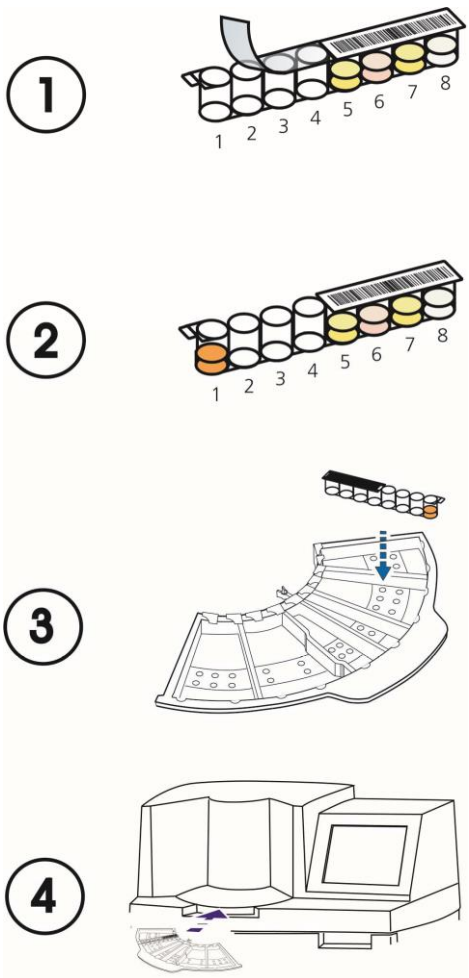
1. Sabella C: Measles: not just a childhood rash. Cleve Clin J Med 2010, 77:207-213.
2. Centere for Disease Control and Prevention: Recommendations from an Ad Hoc Meeting of the WHO Measles and Rubella Laboratory Network (LabNet) on Use of Alternative Diagnostic Samples for Measles and Rubella Surveillance. Morbidity Mortality Weekly Report 2008, 57:657-660.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Yanagi Y, Takeda M, Ohne S: Measles virus: cellular receptors, tropism and pathogenesis J Gen.Virol. 2006, 87:2767-2779.
4. Mosquera MM, de OF, Gallardo V, Cuenca L, Morales M, Sanchez-Yedra W, Cabezas T, Hernandez JM, Echevarria JE: Evaluation of diagnostic markers for measles virus infection in the context of an outbreak in Spain
5. J Clin Microbiol 2005, 43:5117-5121.
6. Bellini WJ, Helfand RF: The challenges and strategies for laboratory diagnosis of measles in an international setting. J Infect Dis 2003, 187 Suppl 1:S283-S290.
7. Young VA, Rail GF: Making it to the synapse: measles virus spread in and among neurons. Curr Top.Microbiol Immunol 2009, 330:3-30.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 909MX_IFU_EN_QM 113248_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

909GL_4

ORG 909GL Anti-Measles Virus IgG Liquor

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Measles Virus IgG Liquor для анализатора Alegria® предназначена для сравнительного количественного определения антител класса IgG к вирусу кори методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека, или спинномозговой жидкости. Данный количественный анализ предназначен для определения синтеза антител IgG в центральной нервной системе. Он не подходит для обнаружения антител класса IgG к вирусу кори только в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Данный анализ используется для подтверждения неврологического заболевания (вируса кори). Вирус кори вызывает развитие энцефалита примерно у 1 ребенка из 1000. Подострый склерозирующий панэнцефалит (ПСПЭ) развивается примерно у 1 ребенка из 10000. ПСПЭ - это позднее осложнение, которое развивается обычно через четыре-десять лет после заражения корью и всегда приводит к летальному исходу. В СМЖ заболевших детей обнаруживается повышенный титр специфических антител к вирусу кори. При хронических заболеваниях с поражением ЦНС, например, рассеянном склерозе (РС) или волчанке с неврологическими проявлениями, в СМЖ может быть обнаружен повышенный индекс антител к вирусу кори, краснухи и/или вирусу ветряной оспы. Подобная MRZ-реакция выявляется примерно у 90% пациентов с вирусом кори.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
909GL_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Очищенные частицы инактивированного вируса кори (аттенуированный штамм Edmonston) связываются с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
Образец спинномозговой жидкости и соответствующий образец сыворотки от одного и того же пациента должны быть исследованы в одной и той же серии испытаний. Для параллельного проведения обоих анализов необходимы две тест-полоски - одна для спинномозговой жидкости и одна для сыворотки.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

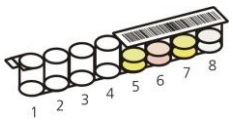
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Measl SerCSF IgG*** на печатной этикетке: ***Meas-L-G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Руководство пользователя анализатора Alegria® Мини-DVD Alegria®

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетки на 10 мкл, пипетки с варьируемым объемом дозирования на 10-100 мкл и 100-1000 мкл
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы крови и спинномозговой жидкости должны быть отобраны у пациента в один и тот же день.
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Образцы должны быть чистыми и негемолизированными.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Избегайте повторного замораживания и размораживания образцов. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием образцов.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Для проведения данного анализа образцы спинномозговой жидкости и сыворотки или плазмы крови должны иметь схожую концентрацию белка.
- Поскольку концентрация спинномозговой жидкости намного ниже, чем сыворотки или плазмы крови, необходимо предварительное разбавление образцов сыворотки.
- Для получения значений в пределах диапазона измерения предварительное разбавление образцов сыворотки/плазмы может быть различным для каждого параметра в зависимости от серопревалентности.

Образцы спинномозговой жидкости также могут быть предварительно разбавлены или использованы в меньшем объеме, если предполагается наличие высокой концентрации антител.

- Рекомендуется предварительно разбавить образец сыворотки или плазмы крови готовым к использованию буферным раствором для промывки.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Приготовление образцов зависит от панели образцов и может отличаться в разных лабораториях. Эмпирические значения для предварительного разведения (сыворотка/плазма) и объема (СМЖ)

	Предварительное разведение	Сыворотка/плазма+Буферный раствор для промывки	СМЖ
ORG 901 GL Тест-система для определения антител класса IgG к капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG905GL Тест-система для обнаружения антител класса IgG к вирусу простого герпеса I и II типа	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG 909GL Тест-система для определения антител класса IgG к вирусу кори	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG911GL Тест-система для определения антител класса IgG к Borrelia	1:4	20 мкл + 60 мкл	60 мкл
ORG 911 ML Тест-система для определения антител класса IgM к Borrelia	1:4	20 мкл + 60 мкл	60 мкл
ORG914GL Тест-система для определения антител класса IgG к вирусу ветряной оспы	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG919GL Тест-система для определения антител класса IgG к краснухе	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Используйте одну тест полоску Alegria® для СМЖ и одну для сыворотки. Различия в обработке:

(2a) Тест-полоска для сыворотки: При помощи пипетки перенесите 10 мкл предварительно разбавленного образца сыворотки или плазмы на дно лунки 1.

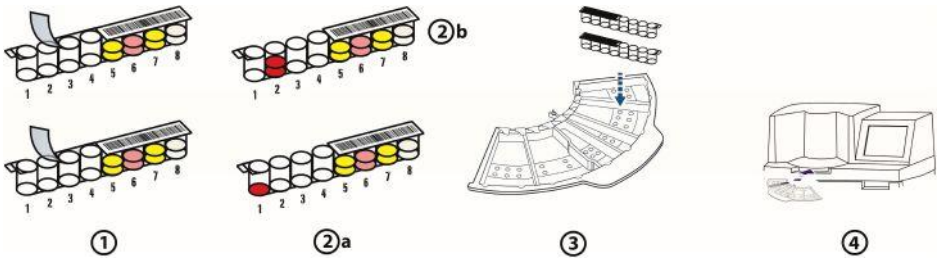
(2b) Тест-полоска для спинномозговой жидкости: При помощи пипетки перенесите 30

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

мкл неразбавленной СМЖ на дно лунки 2.

(2) Установите полоску в системный лоток SysTray

(3) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 10-200 ед/мл.

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 10 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед/мл.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, образцы, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для промывки.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов сыворотки по результатам 20 определений за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов сыворотки по результатам 2 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	9,1	4,8
2	24,0	6,0
3	63,7	6,9

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	9,8	5,4
2	26,4	6,2
3	69,2	6,9

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов сыворотки/плазмы крови человека. Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина).

При вирусных инфекциях ВПГ, вируса Эпштейна-Барра, паровируса 19, краснухи или паротита интерференции не наблюдалось.

Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет результатов выполняется автоматически.

РАСЧЕТ ИНДЕКСА АНТИТЕЛ (ИА)

Для расчета индекса антител требуется проведение анализа альбумина и общего IgG в сыворотке и в СМЖ альтернативными методами, которые не включены в настоящую тест-систему. Концентрацию общего IgG и альбумина следует измерять методами, которые обычно используются в лабораториях, исследующих неврологические заболевания.

Как правило, для определения концентрации антител в образцах достаточно использования неразбавленной СМЖ и предварительного разбавленного образца сыворотки в пропорции 1:4, как рекомендовалось ранее. Иногда результаты анализа могут превышать верхний предел диапазона измерений (> 200 Ед/мл) для отдельных образцов. Следует провести повторный анализ таких образцов с более высокими разведениями для правильного расчета концентрации антител. При использовании образцов СМЖ можно пипетировать меньшие объемы неразбавленной СМЖ в лунку 2 или провести предварительное разбавление готовым к использованию буферным раствором для промывки.

Возможные предварительные разведения и объемы пипетирования, а также полученные факторы разведения приведены в таблице разведения ниже:

образец	Предварительное разведение	Образец + Буферный раствор для промывки	Лунка 1: мкл	Лунка 2: мкл	Коэффициент разведения
Сыворотка	1:4	20 мкл + 60 мкл	10 мкл	—	381
Сыворотка	1:8	10 мкл + 70 мкл	10 мкл	—	762
Сыворотка	1:16	10 мкл + 150 мкл	10 мкл	—	1524
Сыворотка	1:32	10 мкл + 310 мкл	10 мкл	—	3048
Сыворотка	1:64	10 мкл + 630 мкл	10 мкл	—	6096
Сыворотка	1:128	10 мкл + 1270 мкл	10 мкл	—	12192
образец	Предварительное разведение	Образец + Буферный раствор для промывки	Лунка 1: мкл	Лунка 2: мкл	Коэффициент разведения
СМЖ	—	—	—	60 мкл	4
СМЖ	—	—	—	30 мкл	7

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СМЖ	—	—	—	15 мкл	13
СМЖ	1:2	50 мкл + 50 мкл	—	60 мкл	8
СМЖ	1:4	20 мкл + 60 мкл	—	60 мкл	16
СМЖ	1:8	10 мкл + 70 мкл	—	60 мкл	32
СМЖ	1:16	10 мкл + 150 мкл	—	60 мкл	64
СМЖ	1:32	10 мкл + 310 мкл	—	60 мкл	128

Расчет индекса антител:

Расчет индекса антител (ИА) позволит получить информацию о синтезе интеракальных антител, специфических для ВПГ типа 1 и 2 (т.е. антител, вырабатываемых в СМЖ). Обычно индекс антител варьируется от 0,6 до 1,3 (см. интерпретация результатов).

Для расчета ИА в первую очередь необходимы концентрации антител класса IgG, специфических для ВПГ типа 1 и 2 в сыворотке и в спинномозговой жидкости (СМЖ) с поправкой на факторы разведения. С их помощью определяется специфическое соотношение IgG (QIgG Spec):

$Q_{IgG\ Spec}$ = ($IgG_{CSF\ spec}$) / ($IgG_{\ serum\ spec}$)

= (ЕД/мл $_{СМЖ}$ x фактор разведения) / (ЕД/мл $_{сыворотка}$ x фактор разведения)

= (ЕД/мл СМЖ x фактор разведения) / (ЕД/мл сыворотка x фактор разведения) см. таблицу с факторами разведения

См. таблицу с факторами разведения

Определение ИА: $Q_{IgG\ Spec}$ / $Q_{IgG\ (1)}$

(Q_{IgG} = ($IgG_{СМЖ}$)/ ($IgG_{\ сыворотка}$)) = соотношение общего IgG. Требуется отдельное измерение другими способами!

Клиническая поправка:

Соотношение ИА (1) учитывает изменения в барьерной функции ликвора и крови, но не учитывает большого локального синтеза полиспецифических IgG в ЦНС, что приводит к повышению $Q_{\ IgG}$ и к получению ложно низких значений ИА.

Поэтому для более надежной клинической диагностики различных неврологических заболеваний важно проводить различие между

a) инфекциями с моноспецифической интратекальной иммунной реакцией, которая указывает на антиген-возбудитель инфекции, и

b) заболеваниями, при которых антитела синтезируются как вторичная полиспецифическая иммунная реакция в результате неспецифической стимуляции 8-клеточных линий.

Во избежание таких ложноотрицательных результатов при стандартном расчете ИА (1), H.Reiber предложил использовать пороговую функцию (полученную на основе эмпирических клинических данных), которая должна использоваться для скорректированного расчета ИА(с дополнительным требованием измерения альбумина: $Q_{A,b}$ = [$Alb_{СМЖ}$] / [$Alb_{сыворотка}$]):

$$Q_{lim}\ (IgG) = 0.93 \times \sqrt{(Q_{Alb})^2 + 6 \times 10^{-6}} - 1.7 \times 10^{-3}$$

В зависимости от этого порога расчет ИА имеет различие между двумя случаями:

ИА = $Q_{IgG\ Spec}$ / Q_{IgG} (если $Q_{IgG} < Q_{LIM\ (IgG)}$)) (моноспецифичная иммунная реакция) (2)

ИА = $Q_{IgG\ Spec}$ / $Q_{LIM\ (IgG)}$ (если $Q_{IgG} > Q_{LIM\ (IgG)}$)) (полиспецифичная иммунная реакция) (3)

Уравнение 2 используется в том случае, если Q_{IgG} обозначает барьерные условия, относящиеся к преимущественно полученной из крови белковой фракции в СМЖ без значительного локального полиспецифического синтеза IgG в ЦНС, , т.е. если $Q_{IgG} < Q_{LIM\ (IgG)}$

Уравнение 3 используется, если $Q_{IgG} > Q_{LIM\ (IgG)}$

Для упрощения вычислений можно использовать таблицу на компьютере. Компания «ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» подготовила такую таблицу в Excel и по запросу предоставляет ее заинтересованным клиентам, проводящим анализы Alegria® с использованием ликвора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Интерпретация результатов
0.6 < ИА < 1.3 - нормальный диапазон
1.3 < ИА < 1.5 - неопределенный результат
ИА > 1.5 интратекальный синтез антител, специфических для ВПГ 1 и 2 типа

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Кроме того, решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Для образцов сыворотки крови или СМЖ со значениями ниже нижней границы диапазона измерений (зафиксированный результат теста <10 Ед/мл), индекс антител не может быть рассчитан. В зависимости от совокупности результатов (например, повышенные значения антител в СМЖ) можно рассмотреть возможность проведения повторного анализа с более низким разведением образца сыворотки крови человека. Значения ИА <0.6 свидетельствуют об ошибке метода. Все промежуточные результаты должны быть проверены на достоверность.
Приведенные выше референсные диапазоны соответствуют положениям Х. Райбера и должны рассматриваться только как рекомендации. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.
Результат ИА в пределах нормы не исключает наличие инфекции. Если образец взят на ранней стадии заболевания, индекс антител может находиться в пределах нормы. Повышенный ИА не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания. Высокие значения ИА могут сохраняться в течение многих лет после перенесенной инфекции.

Результаты исследования

		Сравнительный метод		
		ИА > 1,5	ИА < 1,5	
ORG 909GL	ИА > 1,5	18	1	
	ИА < 1,5	0	32	
		18	33	51

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	97.0%
Общая согласованность:	98.0 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. http://www.horeiber.de/cerebrospinal.html
2. H. Reiber, J. B. Peter: Cerebrospinal Fluid Analysis: disease related data patterns and evaluation programs 2001, J. Neurol. Sei. 184: 101-122
3. Jarius.S., Eichhorn,P., Wildemann,B., and Wick,M., Usefulness of antibody index assessment in cerebrospinal fluid from patients negative for total-1 gG oligoclonal bands. Fluids Barriers.CNS. 2012. 9: 14.

7. Denne,C., Kleines,M., Dieckhofer,A., Ritter,K., Scheithauer,S., Merz,U., and Hausler,M., Intrathecal synthesis of anti-viral antibodies in pediatric patients. Eur J Paediatr.Neurol. 2007.11: 29-34.

4. Borman,M., Intrathecal IgG synthesis: a resistant and valuable target for future multiple sclerosis treatments. Mult.Scier.Int 2015. 2015: 296184.
5. Jacobi,C., Lange,P., and Reiber,H., Quantitation of intrathecal antibodies in cerebrospinal fluid of subacute sclerosing panencephalitis, herpes simplex encephalitis and multiple sclerosis: discrimination between microorganism-driven and polyspecific immune response. J Neuroimmunol. 2007. 187: 139-146.
6. Marcus,J.F. and Waubant,E.L., Updates on clinically isolated syndrome and diagnostic criteria for

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

multiple sclerosis. Neurohospitalist. 2013. 3: 65-80.
7. Dwyer, E.D. and Cunningham, A.L., Herpes simplex and varicella-zoster virus infections, 2002, MJA 177 (5): 267-73
8. Gardella, C. and Brown, Z.A., Managing genital herpes infections in pregnancy, 2007, Cleve Clin J Med 74 (3):217-224
13. Kimberlin, D.W., Neonatal Herpes Simplex Infection, 2004, Clin Microbiol Rev 17(1):1 -13
14. Ashley, L.A., Performance and use of HSV type-specific serology test kits, 2002, Herpes 9(2):38-45
15. Freedman, E. et al, Epidemiological, Clinical and Laboratory Aids for the Diagnosis of Neonatal Herpes - an Australian Perspective, 2004, Herpes 11(2):38-40

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 909GL_IFU_EN_QM 141896_2016-03-10_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

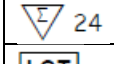
915A_3

ORG 915A Anti-Mycoplasma pneumoniae IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Mycoplasma pneumoniae IgA для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgA к бактериям Mycoplasma pneumoniae методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Серологическое выявление специфических для патогена антител методом ИФА является распространенным методом диагностики инфекций M. pneumoniae. Отдельное выявление антител класса IgM, IgG и IgA используется для дифференциации между первичными инфекциями и повторным инфицированием. Высокие титры антител класса IgA являются наиболее надежным показателем острой инфекции у взрослых; однако низкие титры антител IgA могут сохраняться в течение длительного времени. Титры IgG медленно увеличиваются по мере развития заболевания, обычно достигая максимума примерно через пять недель после появления клинических симптомов, после чего они медленно снижаются. Значительное увеличение титра IgG в течение двух недель подтверждает наличие острой инфекции. Антитела класса IgM обычно обнаруживаются через семь-десять дней после начала инфекции. Они часто отсутствуют в случаях повторного инфицирования.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
915A_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Реакционные лунки покрываются смесью цельноклеточного лизата M. pneumoniae и рекомбинантного адгезина P1.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

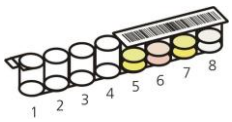
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Myco pneut IgA*** на печатной этикетке ***Mpneu-A***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	%
1	1:100	121,6	121,6	100
	1:200	60,6	60,8	100
	1:400	32,2	30,4	106
	1:800	15,5	15,2	102
2	1:100	106,7	106,7	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	48,9	53,4	92
	1:400	26,6	26,7	100
	1:800	13,6	13,3	102
3	1:100	197,4	197,4	100
	1:200	97.9	98,7	99
	1:400	45,9	49,4	93
	1:800	24,6	24,7	100
	1:1600	12,4	12,3	100

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 5,0 ед/мл.

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	11,9	3,5
2	25,1	4,4
3	109,0	3,8

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	13,0	7,8
2	25.0	6,3
3	110,1	3,3

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
При Chlamydia pneumoniae и Bordetella pertussis, а также в ANA-положительных образцах интерференции не наблюдалось. Более высокий уровень серопревалентности зафиксирован в образцах с ревматоидным факктором. .В образцах, взятых у пациентов с острой инфекцией вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), была обнаружена более высокая серопревалентность, возможно, вызванная поликлональной стимуляцией В-лимфоцитов у этих пациентов.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 3 положительных результатов, эквивалентных 3%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

Сравнительный

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		метод		
		Пол.	Отр.	
ORG 915A	Пол.	22	10	
Anti-Mycoplasma pneumoniae IgA	Отр.	0	342	
		22	352	374

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	97.2%
Общая согласованность:	97.3%

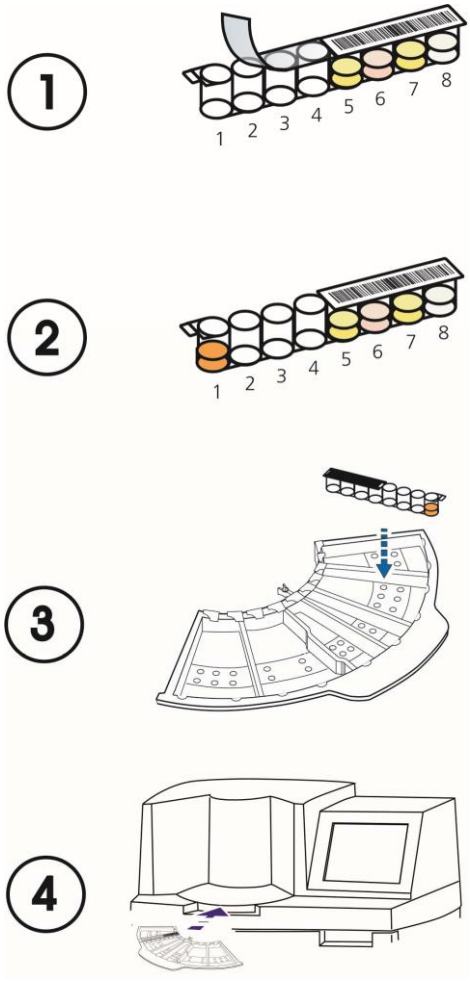
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Beersma MF, Dirven K, van Dam AP, Templeton KE, Claas EC, Goossens H. Evaluation of 12 commercial tests and the complement fixation test for Mycoplasma pneumoniae-specific immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies, with PCR used as the "gold standard". J Clin Microbiol 2005; 43(5):2277-85.
2. Chaudhry R, Nisar N, Hora B, Chirasani SR, Malhotra P. Expression and immunological characterization of the carboxy-terminal region of the PI adhesin protein of Mycoplasma pneumoniae. J Clin Microbiol 2005; 43(1):321 -5.
3. Daxboeck F, Krause R, Wenisch C. Laboratory diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection. Clin Microbiol Infect 2003; 9(4):263-73.
4. Schurwanz N, Jacobs E, Dumke R. Strategy to create chimeric proteins derived from functional adhesin regions of Mycoplasma pneumoniae for vaccine development. Infect Immun 2009; 77(11):5007-15.
5. Vervloet LA, Marguet C, Camargos PA. Infection by Mycoplasma pneumoniae and its importance as an etiological agent in childhood community-acquired pneumonias. Braz J Infect Dis 2007; 11(5):507-14.
6. Waites KB, Talkington DF. Mycoplasma pneumoniae and its role as a human pathogen. Clin Microbiol Rev 2004; 17(4):697-728, table.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 915A_IFU_EN_QM132241_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

915G_3

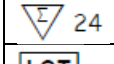
ORG 915G Anti-Mycoplasma pneumoniae IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Mycoplasma pneumoniae IgG для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgIgG к бактериям Mycoplasma pneumoniae методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Серологическое выявление специфических для патогена антител методом ИФА является распространенным методом диагностики инфекций M. pneumoniae. Отдельное выявление антител класса IgM, IgG и IgA используется для дифференциации между первичными инфекциями и повторным инфицрованием. Высокие титры антител класса IgA являются наиболее надежным показателем острой инфекции у взрослых; однако низкие титры антител IgA могут сохраняться в течение длительного времени. Титры IgG медленно увеличиваются по мере развития заболевания, обычно достигая максимума примерно через пять недель после появления клинических симптомов, после чего они медленно снижаются. Значительное увеличение титра IgG в течение двух недель подтверждает наличие острой инфекции. Антитела класса IgM обычно обнаруживаются через семь-десять дней после начала инфекции. Они часто отсутствуют в случаях повторного инфицирования.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
915G_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Реакционные лунки покрываются смесью цельноклеточного лизата M. pneumoniae и рекомбинантного адгезина P1.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

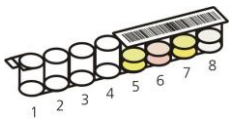
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Myco pneut IgG*** на печатной этикетке ***Mpneu- G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	%
1	1:100	190,0	190,0	100
	1:200	84,7	95.0	89
	1:400	40,8	47,5	86
	1:800	23,9	23,8	101
2	1:100	130,2	130,2	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	56,9	65,1	87
	1:400	32,0	32,5	98
	1:800	17,3	16,3	106
3	1:100	109,9	109,9	100
	1:200	49,1	55,0	89
	1:400	24,1	27,5	88
	1:800	13,6	13,7	99
	1:1600	7,1	6,9	103

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 4,6 ед/мл.

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	11,1	9,2
2	21,8	9,2
3	111,4	8,6

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	12,7	7,9
2	23,7	3,4
3	103,4	9,0

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
При C. pneumoniae, Bordetella pertussis; а также острой инфекции ВЭБ интерференции не наблюдалось. Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами аутоантител, таких как ревматоидные факторы или антинуклеарные антитела.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 24 положительных результатов, эквивалентных 24%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

Сравнительный
метод

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		Пол.	Отр.	
ORG 915G	Пол.	101	9	
Anti-Mycoplasma pneumoniae IgG	Отр.	0	184	
		101	193	294

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	95.3%
Общая согласованность:	96.9%

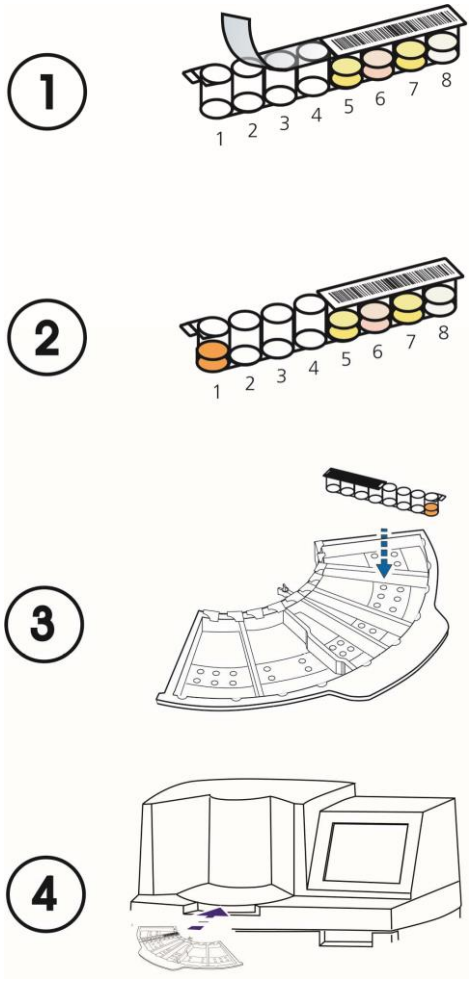
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Beersma MF, Dirven K, van Dam AP, Templeton KE, Claas EC, Goossens H. Evaluation of 12 commercial tests and the complement fixation test for Mycoplasma pneumoniae-specific immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies, with PCR used as the "gold standard". J Clin Microbiol 2005; 43(5):2277-85.
2. Chaudhry R, Nisar N, Hora B, Chirasani SR, Malhotra P. Expression and immunological characterization of the carboxy-terminal region of the PI adhesin protein of Mycoplasma pneumoniae. J Clin Microbiol 2005; 43(1):321 -5.
3. Daxboeck F, Krause R, Wenisch C. Laboratory diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection. Clin Microbiol Infect 2003; 9(4):263-73.
4. Schurwanz N, Jacobs E, Dumke R. Strategy to create chimeric proteins derived from functional adhesin regions of Mycoplasma pneumoniae for vaccine development. Infect Immun 2009; 77(11):5007-15.
5. Vervloet LA, Marguet C, Camargos PA. Infection by Mycoplasma pneumoniae and its importance as an etiological agent in childhood community-acquired pneumonias. Braz J Infect Dis 2007; 11(5):507-14.
6. Waites KB, Talkington DF. Mycoplasma pneumoniae and its role as a human pathogen. Clin Microbiol Rev 2004; 17(4):697-728, table.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 915G_IFU_EN_QM132284_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

915MX_3

ORG 915MX Anti-Mycoplasma pneumoniae IgM Abs.

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Mycoplasma pneumoniae IgM (с абсорбентом) предназначена для количественного определения антител класса IgM к бактериям Mycoplasma pneumoniae методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения. В состав тест-системы Alegria® для определения антител класса IgM к Mycoplasma pneumoniae (с абсорбентом) входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ).

Серологическое выявление специфических для патогена антител методом ИФА является распространенным методом диагностики инфекций M. pneumoniae. Отдельное выявление антител класса IgM, IgG и IgA используется для дифференциации между первичными инфекциями и повторным инфицированием. Высокие титры антител класса IgA являются наиболее надежным показателем острой инфекции у взрослых; однако низкие титры антител IgA могут сохраняться в течение длительного времени. Титры IgG медленно увеличиваются по мере развития заболевания, обычно достигая максимума примерно через пять недель после появления клинических симптомов, после чего они медленно снижаются. Значительное увеличение титра IgG в течение двух недель подтверждает наличие острой инфекции. Антитела класса IgM обычно обнаруживаются через семь-десять дней после начала инфекции. Они часто отсутствуют в случаях повторного инфицирования.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
915MX_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Реакционные лунки покрываются смесью цельноклеточного лизата M. pneumoniae и рекомбинантного адгезина P1.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

Ревматоидный фактор (РФ) может влиять на результат определения антител класса IgM в серологии инфекционных заболеваний. Этого можно избежать, используя абсорбент РФ. В состав тест-системы Alegria® входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ). Поглощение происходит во время обработки образцов в анализаторе Alegria®. Подготовка или предварительное разведение образцов не требуется.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

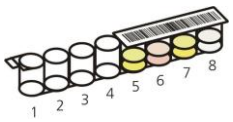
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Myco pneum IgM ab*** на печатной этикетке ***Mpneu-MX***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

SYSTEM FLUID 1x 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 x.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Не применимо. Данный анализ является нелинейным количественным определением, т.к. буфер образца содержит абсорбент РФ.

Предел обнаружения

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 2,6 ед/мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	13,2	4,3
2	18,8	3,0
3	131,4	6,1

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	10,6	5,4
2	19,6	4,6
3	121,8	6,3

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

При Chlamydia pneumoniae или Bordetella pertussis интерференции не наблюдалось.

Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами аутоантител, таких как ревматоидные факторы или антинуклеарные антитела.

.В образцах, взятых у пациентов с острой инфекцией вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), была обнаружена более высокая серопревалентность, возможно, вызванная поликлональной стимуляцией В-лимфоцитов у этих пациентов.

Помех, вызванных ревматоидными факторами, можно избежать за счет применения абсорбента РФ в буфере для разведения образцов в лунках тест-полосок Alegria®.

Серопревалентность

Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 3 положительных результатов, эквивалентных 3%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

		Сравнительный метод		
		Пол.	Отр.	
ORG 915MX	Пол.	28	6	
Anti-Mycoplasma pneumoniae IgM Abs	Отр.	1	340	
		29	346	375

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Чувствительность:	96.6%
Специфичность:	98.3%
Общая согласованность:	98.1%

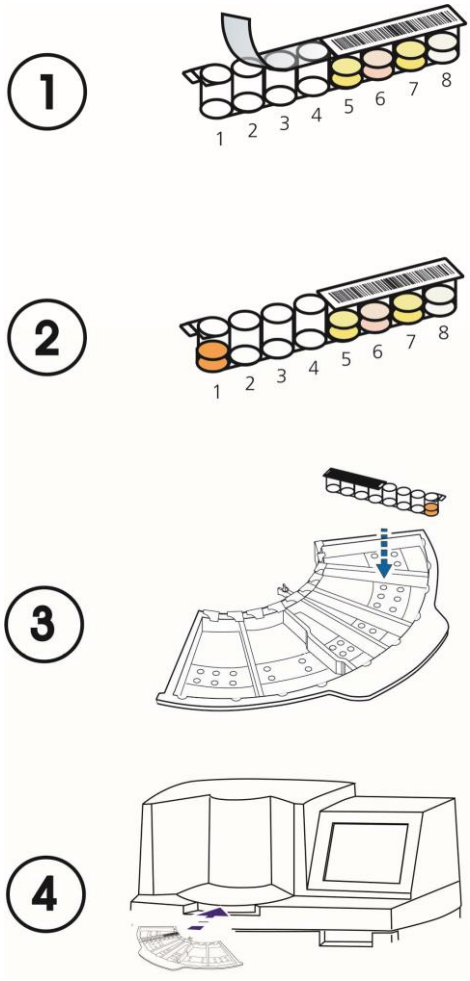
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Beersma MF, Dirven K, van Dam AP, Templeton KE, Claas EC, Goossens H. Evaluation of 12 commercial tests and the complement fixation test for Mycoplasma pneumoniae-specific immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies, with PCR used as the "gold standard". J Clin Microbiol 2005; 43(5):2277-85.
2. Chaudhry R, Nisar N, Hora B, Chirasani SR, Malhotra P. Expression and immunological characterization of the carboxy-terminal region of the PI adhesin protein of Mycoplasma pneumoniae. J Clin Microbiol 2005; 43(1):321 -5.
3. Daxboeck F, Krause R, Wenisch C. Laboratory diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection. Clin Microbiol Infect 2003; 9(4):263-73.
4. Schurwanz N, Jacobs E, Dumke R. Strategy to create chimeric proteins derived from functional adhesin regions of Mycoplasma pneumoniae for vaccine development. Infect Immun 2009; 77(11):5007-15.
5. Vervloet LA, Marguet C, Camargos PA. Infection by Mycoplasma pneumoniae and its importance as an etiological agent in childhood community-acquired pneumonias. Braz J Infect Dis 2007; 11(5):507-14.
6. Waites KB, Talkington DF. Mycoplasma pneumoniae and its role as a human pathogen. Clin Microbiol Rev 2004; 17(4):697-728, table.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 915MX_IFU_EN_QM 132285_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

913A_3

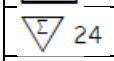
ORG 913A Anti-Yersinia IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Yersinia IgA предназначена для количественного определения антител класса IgA к Yersinia sp методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Данный анализ служит для дифференциальной диагностики артрита. Yersinia, наряду с другими микроорганизмами, может быть причиной развития реактивного артрита, но возбудитель может не обнаруживается в пораженных суставах. По этой причине важно серологическое определение специфических антител. Через несколько недель после первичного заражения у пациентов могут появиться симптомы артрита. В это время антитела класса IgM могут не обнаруживаться, а только класс IgA и Ig. Высокие титры антител класса IgA и IgG свидетельствуют о перенесенной инфекции в недавнем прошлом. Антитела класса IgG могут сохраняться на низком уровне в течение многих лет, в то время как IgA исчезают с течением времени

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
913A_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантный иммунодоминантный антиген YopD высокой степени очистки, связывается с реакционными лунками.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

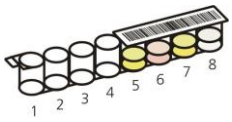
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Yers IgA*** на печатной этикетке ***Yers-A***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	195,2	195,2	100
	1:200	107,2	97,6	110
	1:400	51,2	48,8	105
	1:800	25,5	24,4	105
2	1:100	159,5	159,5	100
	1:200	80,3	79,8	101

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	40.2	39,9	101
	1:800	19,8	19,9	99
3	1:100	81,3	81,3	100
	1:200	43,5	40,7	107
	1:400	20,5	20,3	101
	1:800	11,3	10,2	111

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 2,7 ед/мл.

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	5,2	6,9
2	28,0	5,3
3	93,1	7,9

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	4,6	4,8
2	30,4	7,2
3	96,3	7,4

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями Borrelia sp., Chlamydia sp., Yersinia sp., ни образов, положительных к ревматоидному фактору. Более высокий уровень серопревалентностизафиксирован в образцах от пациентов с острой ВЭБ-инфекцией и пациентов, у которых были обнаружены антинуклеарные антитела.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 13 положительных результатов, эквивалентных 13%-ой серопревалентности.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

		Сравнительный метод Пол.	Отр.	
ORG 913A	Пол.	48	3 *	
Anti-Yersinia IgA	Отр.	12 °	263	
		60	266	326

Чувствительность:	80.0%
Специфичность:	98.9%
Общая согласованность:	95.4%

* 2 образца признаны положительными при применении второго сравнительного метода
° 11 образцов признаны отрицательными, а один демонстрирует пороговые значения при применении второго сравнительного метода

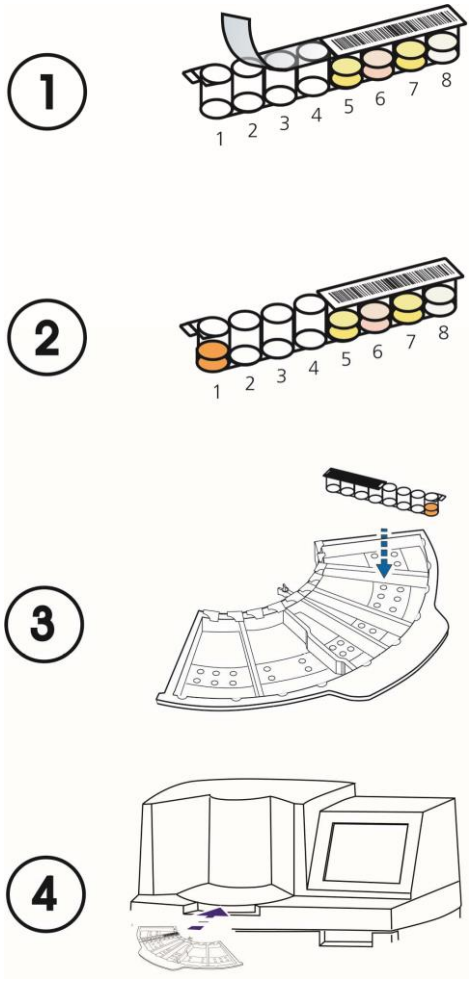
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Bottone, E.J., Yersinia enterocolitica: The Charisma Continues, 1997, Clin Microbiol Rev 10(2):257-276. Cornelis, G.R., The Virulence Plasmid of Yersinia, an Antihost Genome, 1998, Microbiol Mol Biol Rev. 62(4): 1315 -52.
2. Ling, C. et al., Yersinia pseudotuberculosis and Y. enterocolitica infections, Food Net, 1996-2007, 2010, Em erg Infect Dis 16(3):566-567.
3. Rosner, B.M. et al., Epidemiol logy of reported Yersinia enterocolitica infections in Germany, 2001-2008, 2008, BMC Public Health 2010, 10:337.
4. Kobayashi, S. et Kida, I., Reactive arthritis: recent advances and clinical manifestations 2005, Intern Med. 44:509-510.
5. Rawlins, M.L. et al., Evaluation of a Western Blot Method for the Detection of Yersinia Antibodies: Evidence of Serological Cross-Reactivity between Yersinia Outer Membrane Proteins and Borrelia burgdorferi, 2005, Clin Diagn Lab Immunol 12(11):1269-1274.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 913A_IFU_EN_QM130039_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

913G_3

ORG 913G Anti-Yersinia IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Yersinia IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к Yersinia sp методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Данный анализ служит для дифференциальной диагностики артрита. Yersinia, наряду с другими микроорганизмами, может быть причиной развития реактивного артрита, но возбудитель может не обнаруживается в пораженных суставах. По этой причине важно серологическое определение специфических антител. Через несколько недель после первичного заражения у пациентов могут появиться симптомы артрита. В это время антитела класса IgM могут не обнаруживаться, а только класс IgA и Ig. Высокие титры антител класса IgA и IgG свидетельствуют о перенесенной инфекции в недавнем прошлом. Антитела класса IgG могут сохраняться на низком уровне в течение многих лет, в то время как IgA исчезают с течением времени

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
913G_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Рекомбинантный иммунодоминантный антиген YopD высокой степени очистки, связывается с реакционными лунками.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

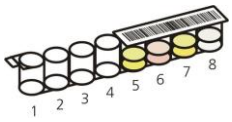
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Yers IgG*** на печатной этикетке ***Yers- G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное	Ожидаемое	Соотнош
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	153,1	153,1	100
	1:200	73,8	76,6	96
	1:400	37,6	38,3	98
	1:800	19,8	19,1	103
2	1:100	130,0	130,0	100
	1:200	64,2	65,0	99
	1:400	30,9	32,5	95

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:800	16,2	16,3	100
3	1:100	107,6	107,6	100
	1:200	56,2	53,8	104
	1:400	28,4	26,9	106
	1:800	14,9	13,5	111

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 1,1 ед/мл.

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	10,8	5,5
2	22,1	6,1
3	142,9	7,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	9,6	8,2
2	23,1	4,6
3	164,2	9,1

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями Borrelia sp., Chlamydia sp., ни образов, положительных к ревматоидному фактору. Более высокий уровень серопревалентностизафиксирован в образцах от пациентов с острой ВЭБ-инфекцией и пациентов, у которых были обнаружены антинуклеарные антитела.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 34 положительных результатов, эквивалентных 34%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

		Сравнительный метод	
		Пол.	Отр.
ORG 913G	Пол.	153	4
Anti-Yersinia IgG	Отр.	3	160

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

156	164	320

Чувствительность:	98.1%
Специфичность:	97.6%
Общая согласованность:	97.8%

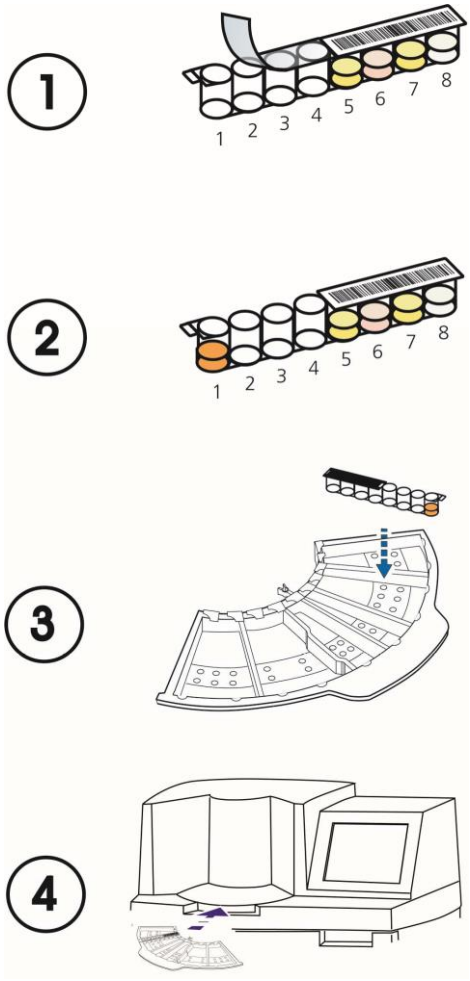
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Bottone, E.J., Yersinia enterocolitica: The Charisma Continues, 1997, Clin Microbiol Rev 10(2):257-276. Cornelis, G.R., The Virulence Plasmid of Yersinia, an Antihost Genome, 1998, Microbiol Mol Biol Rev. 62(4): 1315 -52.
2. Ling, C. et al., Yersinia pseudotuberculosis and Y. enterocolitica infections, Food Net, 1996-2007, 2010, Em erg Infect Dis 16(3):566-567.
3. Rosner, B.M. et al., Epidemiol logy of reported Yersinia enterocolitica infections in Germany, 2001-2008, 2008, BMC Public Health 2010, 10:337.
4. Kobayashi, S. et Kida, I., Reactive arthritis: recent advances and clinical manifestations 2005, Intern Med. 44:509-510.
5. Rawlins, M.L. et al., Evaluation of a Western Blot Method for the Detection of Yersinia Antibodies: Evidence of Serological Cross-Reactivity between Yersinia Outer Membrane Proteins and Borrelia burgdorferi, 2005, Clin Diagn Lab Immunol 12(11):1269-1274.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 913GJFU_EN_QM130038_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

914A_3

ORG 914A Anti-VZV IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-VZV IgA для Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgA к вирусу ветряной оспы методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Тест используется для выявления первичной инфекции или реактивации вируса ветряной оспы, вызывающего ветряную оспу и опоясывающий лишай (опоясывающий герпес). При подозрении на ветряную оспу, следует проверить наличие антител класса IgG, IgM и IgA. Антитела класса IgM типичны для острой фазы заболевания. В случаях реактивации вируса диагностически значимым является повышение титров антител IgA и IgG. Определение антител класса IgG используется для документирования иммунного статуса и подтверждения успешной вакцинации.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
914A_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Гликопротеин вируса ветряной оспы высокой степени очистки из клеточной культуры связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

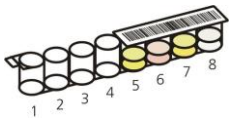
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса IgA человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***VZVIgA*** на печатной этикетке ***VZV-A***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.
Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений
Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед/мл.

Ожидаемые значения
Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.
Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность
Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	177,8	177,8	100
	1:200	94.8	88.9	107
	1:400	48,0	44,5	108
	1:800	23,2	22,2	104
2	1:100	150,1	150,1	100
	1:200	79,1	75,1	106
	1:400	39,9	37,5	106
	1:800	17,4	18,8	93

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3	1:100	115,6	115,6	100
	1:200	64,7	57.8	112
	1:400	31,8	28,9	110
	1:800	14,1	14,5	98

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 1,4 ед/мл.

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	7,1	2,4
2	86,1	4,3
3	155,0	4,0

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	7,7	8,0
2	101,1	4,5
3	161,0	5,0

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
При вирусных инфекциях ВПГ, вируса Эпштейна-Барра, паровируса 19, кори, паортита интерференции не наблюдалось. Более высокий уровень серопревалентности зафиксирован в образцах с ревматоидным факктором и антиядерными антителами.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 5 положительных результатов, эквивалентных 5%-ой серопревалентности.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

		Сравнительный метод		
		Пол.	Отр.	
ORG 914A	Пол.	51	0	
Anti-VZV IgA	Отр.	5 °	269	
		56	269	325

Чувствительность:	91.1%
Специфичность:	100.0%
Общая согласованность:	98.5%

° 3 образца признаны отрицательными при применении второго сравнительного метода; 2 образца: н/д

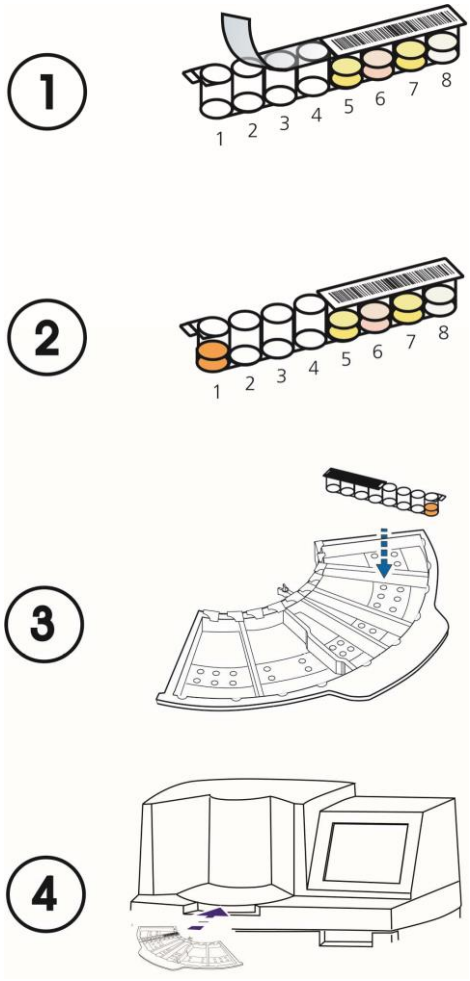
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Cohen, J.I. et al., Recent Advances in Varicella-Zoster Virus Infection, 1999, Ann Intern Med 130:922-932.Dwyer, E.D. und Cunningham, A.L., Herpes simplex and varicella-zoster virus infections, 2002, MJA 177(5), 267-73.
2. Mueller, N.H. et al., Varicella Zoster Virus Infection: Clinical Features, Molecular Pathogenesis of Disease, and Latency, 2008, Neurol Clin. 26(3): 675-695.
3. Gardella, C. et Brown, Z.A., Managing varicella zoster infection in pregnancy, 2007, Cleve Clin J Med 74(4):290 -296.
4. Arvin, A., Humoral and Cellular Immunity to Varicella-Zoster Virus: An Overview, 2008, J Inf Dis 197:S58-60.
5. Breuer, J. et al., Use and Limitations of Varicella-Zoster Virus-Specific Serological Testing to Evaluate Breakthrough Disease in Vaccinées and to Screen for Susceptibility to Varicella, 2008, J Inf Dis 197:S 147-51.
6. Sauerbrei, A. und Wutzler, P., Serological Detection of Varicella-Zoster Virus-Specific Immunoglobulin G by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using Glycoprotein Antigen, 2006, J Clin Microbiol 44(9):3094-3097.
7. Hammond, O. et al., The optimization and validation of the glycoprotein ELISA assay for quantitative varicellazostervirus (VZV) antibody detection, 2006, J Med Virol. 78(12):1679-87.
8. Vizoso Pinto et al., A systematic approach for the identification of novel, serologically reactive recombinant Varicella-Zoster Virus (VZV) antigens, 2010, Virol J, 7:165.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 914A_IFU_EN_QM130041_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

914G_3

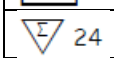
ORG 914G Anti-VZV IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-VZV IgG для Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgG к вирусу ветряной оспы методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Тест используется для выявления первичной инфекции или реактивации вируса ветряной оспы, вызывающего ветряную оспу и опоясывающий лишай (опоясывающий герпес). При подозрении на ветряную оспу, следует проверить наличие антител класса IgG, IgM и IgA. Антитела класса IgM типичны для острой фазы заболевания. В случаях реактивации вируса диагностически значимым является повышение титров антител IgA и IgG. Определение антител класса IgG используется для документирования иммунного статуса и подтверждения успешной вакцинации.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
914G_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Гликопротеин вируса ветряной оспы высокой степени очистки из клеточной культуры связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

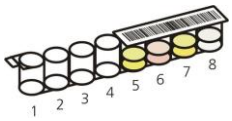
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***VZVIgG*** на печатной этикетке ***VZV-G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.
Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА
Данная тест-система откалибрована по международному эталонному препарату ВОЗ (NIBSC код W1044).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ
С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений
Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-1500 мМЕ/мл.

Ожидаемые значения
Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 100 мМЕ/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 50 мМЕ/мл
Пороговое значение	50 - 100 мМЕ/мл
Положительный результат	> 100 мМЕ/мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ
Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.
Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность
Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		мМЕ/мл	мМЕ/мл	(%)
1	1:100	1098,4	1098,4	100
	1:200	577,1	549,2	105
	1:400	279,5	274,6	102
	1:800	139,1	137,3	101
2	1:100	249,9	249,9	100
	1:200	123,8	125,0	99
	1:400	62,3	62,5	100
	1:800	30,9	31,2	99

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ВОЗ	1:6400	778,8	781,3	100
	1:12800	387,3	390,6	99
	1:25600	183,8	195,3	94
	1:51200	95,3	97,7	98
	1:102800	48,5	48,8	99
	1:205600	26,2	24,4	107

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 7,8 мМЕ/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, мМЕ/мл	КВ, %
1	14,1	9,6
2	115,7	3,1
3	1010,1	8,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, мМЕ/мл	КВ, %
1	12,5	12,3
2	118,5	2,8
3	876,3	7,0

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
При вирусных инфекциях ВПГ, вируса Эпштейна-Барра, паровируса 19, кори, паортита интерференции не наблюдалось. Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 98 положительных результатов, эквивалентных 98%-ой серопревалентности.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

		Сравнительный метод Пол.	Отр.	
ORG 914G	Пол.	414	2 *	
Anti-VZV IgG	Отр.	0	14	
		414	16	430

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	87.5%
Общая согласованность:	99.5%

° в обоих образцах присутствуют антитела класса IgM, подозревается острая инфекция

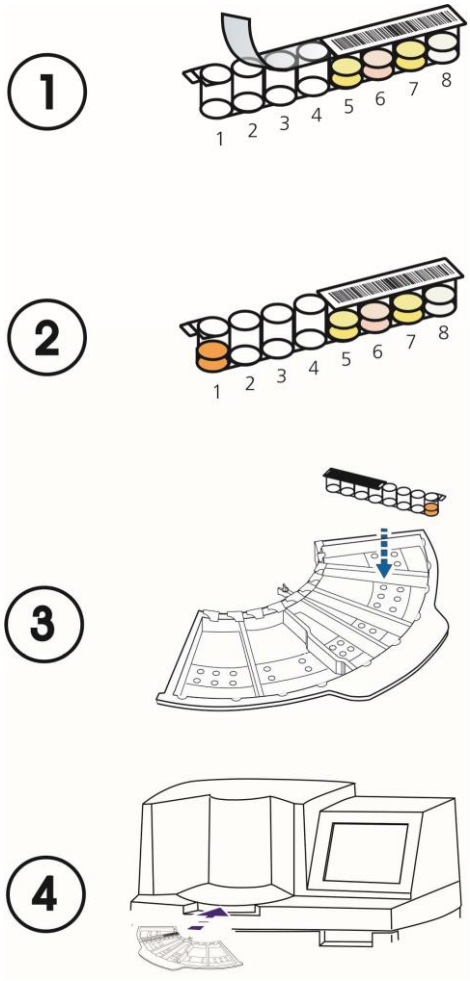
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Cohen, J.I. et al., Recent Advances in Varicella-Zoster Virus Infection, 1999, Ann Intern Med 130:922-932.Dwyer, E.D. und Cunningham, A.L., Herpes simplex and varicella-zoster virus infections, 2002, MJA 177(5), 267-73.
2. Mueller, N.H. et al., Varicella Zoster Virus Infection: Clinical Features, Molecular Pathogenesis of Disease, and Latency, 2008, Neurol Clin. 26(3): 675-695.
3. Gardella, C. et Brown, Z.A., Managing varicella zoster infection in pregnancy, 2007, Cleve Clin J Med 74(4):290 -296.
4. Arvin, A., Humoral and Cellular Immunity to Varicella-Zoster Virus: An Overview, 2008, J Inf Dis 197:S58-60.
5. Breuer, J. et al., Use and Limitations of Varicella-Zoster Virus-Specific Serological Testing to Evaluate Breakthrough Disease in Vaccinées and to Screen for Susceptibility to Varicella, 2008, J Inf Dis 197:S 147-51.
6. Sauerbrei, A. und Wutzler, P., Serological Detection of Varicella-Zoster Virus-Specific Immunoglobulin G by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using Glycoprotein Antigen, 2006, J Clin Microbiol 44(9):3094-3097.
7. Hammond, O. et al., The optimization and validation of the glycoprotein ELISA assay for quantitative varicellazostervirus (VZV) antibody detection, 2006, J Med Virol. 78(12):1679-87.
8. Vizoso Pinto et al., A systematic approach for the identification of novel, serologically reactive recombinant Varicella-Zoster Virus (VZV) antigens, 2010, Virol J, 7:165.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 914G_IFU_EN_QM130040_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

914MX_5

ORG 914MX Anti-VZV IgM Abs.

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-VZV IgM (с абсорбентом) для Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgM к вирусу ветряной оспы методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения. В состав тест-системы Alegria® для определения антител класса IgM к вирусу ветряной осппы (с абсорбентом) входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ).

Тест используется для выявления первичной инфекции или реактивации вируса ветряной оспы, вызывающего ветряную оспу и опоясывающий лишай (опоясывающий герпес). При подозрении на ветряную оспу, следует проверить наличие антител класса IgG, IgM и IgA. Антитела класса IgM типичны для острой фазы заболевания. В случаях реактивации вируса диагностически значимым является повышение титров антител IgA и IgG. Определение антител класса IgG используется для документирования иммунного статуса и подтверждения успешной.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
914MX_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Гликопротеин вируса ветряной оспы высокой степени очистки из клеточной культуры связывается с реакционными лунками.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

Ревматоидный фактор (РФ) может влиять на результат определения антител класса IgM в серологии инфекционных заболеваний. Этого можно избежать, используя абсорбент РФ. В состав тест-системы Alegria® входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ). Поглощение происходит во время обработки образцов в анализаторе Alegria®. Подготовка или предварительное разведение образцов не требуется.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

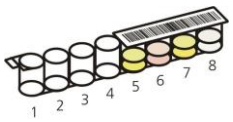
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***VZVIgMAb*** на печатной этикетке ***VZV-MX G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Alegria®.
Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Не применимо. Данный анализ является нелинейным количественным определением, т.к. буфер образца содержит абсорбент РФ.

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 6,8 ед/мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	18,8	8,0
2	27,1	6,0
3	52,5	4,5

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	20,1	15,2
2	25,2	5,2
3	53,9	10,7

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

При вирусных инфекциях ВПГ, паровируса 19, кори, паортита интерференции не наблюдалось. Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител.

В образцах, взятых у пациентов с острой инфекцией вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), была обнаружена более высокая серопревалентность, возможно, вызванная поликлональной стимуляцией В-лимфоцитов у этих пациентов.

Серопревалентность

Анализ 100 здоровых доноров крови в Германии не выявил положительных результатов, что эквивалентно 0%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

		Сравнительный метод		
		Пол.	Отр.	
ORG 914MX	Пол.	16	4	
Anti-VZV IgM Abs	Отр.	5	329	
		21	333	354

Чувствительность:	76.2%
Специфичность:	98.8%
Общая согласованность:	97.5%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

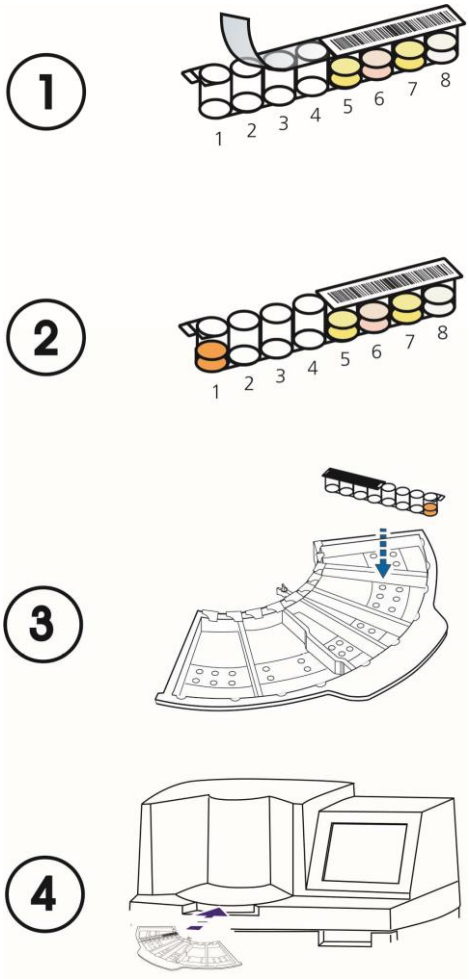
1. Cohen, J.I. et al., Recent Advances in Varicella-Zoster Virus Infection, 1999, Ann Intern Med 130:922-932.Dwyer, E.D. und Cunningham, A.L., Herpes simplex and varicella-zoster virus infections, 2002, MJA 177(5), 267-73.
2. Mueller, N.H. et al., Varicella Zoster Virus Infection: Clinical Features, Molecular Pathogenesis of Disease, and Latency, 2008, Neurol Clin. 26(3): 675-695.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Gardella, C. et Brown, Z.A., Managing varicella zoster infection in pregnancy, 2007, Cleve Clin J Med 74(4):290 -296.
4. Arvin, A., Humoral and Cellular Immunity to Varicella-Zoster Virus: An Overview, 2008, J Inf Dis 197:S58-60.
5. Breuer, J. et al., Use and Limitations of Varicella-Zoster Virus-Specific Serological Testing to Evaluate Breakthrough Disease in Vaccinées and to Screen for Susceptibility to Varicella, 2008, J Inf Dis 197:S 147-51.
6. Sauerbrei, A. und Wutzler, P., Serological Detection of Varicella-Zoster Virus-Specific Immunoglobulin G by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using Glycoprotein Antigen, 2006, J Clin Microbiol 44(9):3094-3097.
7. Hammond, O. et al., The optimization and validation of the glycoprotein ELISA assay for quantitative varicellazostervirus (VZV) antibody detection, 2006, J Med Virol. 78(12):1679-87.
8. Vizoso Pinto et al., A systematic approach for the identification of novel, serologically reactive recombinant Varicella-Zoster Virus (VZV) antigens, 2010, Virol J, 7:165.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 914MX_IFU_EN_QM 130042_2018-01-02_4*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

914GL_4

ORG 914GL Anti-VZV IgG Liquor

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-VZV IgG Liquor для анализатора Alegria® предназначена для сравнительного количественного определения антител класса IgG к вирусу ветряной оспы методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека, или спинномозговой жидкости. Данный количественный анализ предназначен для определения синтеза антител IgG в центральной нервной системе. Он не подходит для обнаружения антител класса IgG к вирусу ветряной оспы только в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Повышенный индекс антител к вирусу ветряной оспы характеризует ганглионит ветряной оспы, часто сопровождающийся парезом лицевого нерва. Определение антител к вирусу ветряной оспы помогает отличить нейроборрелиоз от других заболеваний. При хронических заболеваниях с поражением ЦНС, например, рассеянном склерозе (РС) или волчанке с неврологическими проявлениями, в СМЖ может быть обнаружен повышенный индекс антител к вирусу кори, краснухи и/или вирусу ветряной оспы. Подобная MRZ-реакция выявляется примерно у 90% пациентов с РС.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
914GL_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Гликопротеин вируса ветряной оспы высокой степени очистки, выделенный из клеточной культуры, связывается с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
Образец спинномозговой жидкости и соответствующий образец сыворотки от одного и того же пациента должны быть исследованы в одной и той же серии испытаний. Для параллельного проведения обоих анализов необходимы две тест-полоски - одна для спинномозговой жидкости и одна для сыворотки.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.
- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 %

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

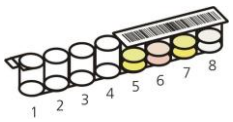
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***VZV SerCSF IgG*** на печатной этикетке ***VZV-L-G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

Руководство пользователя анализатора Alegria® Мини-DVD Alegria®

1 Сертификат анализа

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 9 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетки на 10 мкл, пипетки с варьируемым объемом дозирования на 10-100 мкл и 100-1000 мкл
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы крови и спинномозговой жидкости должны быть отобраны у пациента в один и тот же день.
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Образцы должны быть чистыми и негемолизированными.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Избегайте повторного замораживания и размораживания образцов. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием образцов.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Для проведения данного анализа образцы спинномозговой жидкости и сыворотки или плазмы крови должны иметь схожую концентрацию белка.
- Поскольку концентрация спинномозговой жидкости намного ниже, чем сыворотки или плазмы крови, необходимо предварительное разбавление образцов сыворотки.
- Для получения значений в пределах диапазона измерения предварительное разбавление образцов сыворотки/плазмы может быть различным для каждого параметра в зависимости от серопревалентности.

Образцы спинномозговой жидкости также могут быть предварительно разбавлены или использованы в меньшем объеме, если предполагается наличие высокой концентрации антител.

- Рекомендуется предварительно разбавить образец сыворотки или плазмы крови готовым к использованию буферным раствором для промывки.

Приготовление образцов зависит от панели образцов и может отличаться в разных лабораториях. Эмпирические значения для предварительного разведения (сыворотка/плазма) и объема (СМЖ)

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	Предварительное разведение	Сыворотка/плазма+Буферный раствор для промывки	СМЖ
ORG 901 GL Тест-система для определения антител класса IgG к капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG905GL Тест-система для обнаружения антител класса IgG к вирусу простого герпеса I и II типа	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG 909GL Тест-система для определения антител класса IgG к вирусу кори	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG911GL Тест-система для определения антител класса IgG к Borrelia	1:4	20 мкл + 60 мкл	60 мкл
ORG 911 ML Тест-система для определения антител класса IgM к Borrelia	1:4	20 мкл + 60 мкл	60 мкл
ORG914GL Тест-система для определения антител класса IgG к вирусу ветряной оспы	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG919GL Тест-система для определения антител класса IgG к краснухе	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Используйте одну тест полоску Alegria® для СМЖ и одну для сыворотки. Различия в обработке:

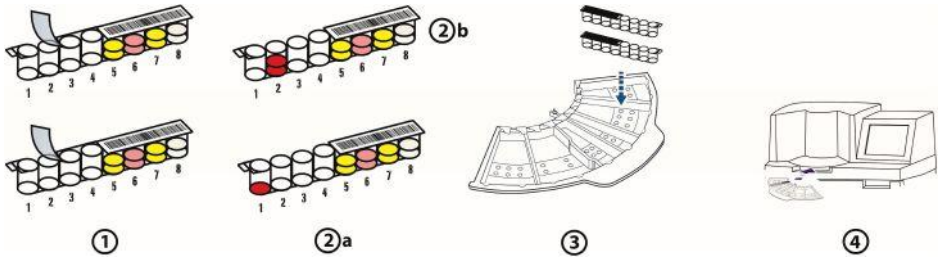
(2a) Тест-полоска для сыворотки: При помощи пипетки перенесите 10 мкл предварительно разбавленного образца сыворотки или плазмы на дно лунки 1.

(2b) Тест-полоска для спинномозговой жидкости: При помощи пипетки перенесите 30 мкл неразбавленной СМЖ на дно лунки 2.

(2) Установите полоску в системный лоток SysTray

(3) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 10-200 ед/мл.

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 10 ед/мл.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, образцы, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для промывки.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов сыворотки по результатам 20 определений за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов сыворотки по результатам 2 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	11,3	10,6
2	36,7	13,0
3	126,1	5,0

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	10,1	12,9
2	36,8	13,9
3	130,8	10,7

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов сыворотки/плазмы крови человека. Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина).

Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями Т.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

pallidum, Chlamydia sp., Yersinia sp. паровирусом B19 или острой инфекции вирусом Эйнштейна-Барр (ВЭБ).
Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ
С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет результатов выполняется автоматически.

РАСЧЕТ ИНДЕКСА АНТИТЕЛ (ИА)
Для расчета индекса антител требуется проведение анализа альбумина и общего IgG в сыворотке и в СМЖ альтернативными методами, которые не включены в настоящую тест-систему. Концентрацию общего IgG и альбумина следует измерять методами, которые обычно используются в лабораториях, исследующих неврологические заболевания.

Как правило, для определения концентрации антител в образцах достаточно использования неразбавленной СМЖ и предварительного разбавленного образца сыворотки в пропорции 1:4, как рекомендовалось ранее. Иногда результаты анализа могут превышать верхний предел диапазона измерений (> 200 Ед/мл) для отдельных образцов. Следует провести повторный анализ таких образцов с более высокими разведениями для правильного расчета концентрации антител. При использовании образцов СМЖ можно пипетировать меньшие объемы неразбавленной СМЖ в лунку 2 или провести предварительное разбавление готовым к использованию буферным раствором для промывки.
Возможные предварительные разведения и объемы пипетирования, а также полученные факторы разведения приведены в таблице разведения ниже:

образец	Предварительное разведение	Образец + Буферный раствор для промывки	Лунка 1: мкл	Лунка 2: мкл	Коэффициент разведения
Сыворотка	1:4	20 мкл + 60 мкл	10 мкл	—	381
Сыворотка	1:8	10 мкл + 70 мкл	10 мкл	—	762
Сыворотка	1:16	10 мкл + 150 мкл	10 мкл	—	1524
Сыворотка	1:32	10 мкл + 310 мкл	10 мкл	—	3048
Сыворотка	1:64	10 мкл + 630 мкл	10 мкл	—	6096
Сыворотка	1:128	10 мкл + 1270 мкл	10 мкл	—	12192
образец	Предварительное разведение	Образец + Буферный раствор для промывки	Лунка 1: мкл	Лунка 2: мкл	Коэффициент разведения
СМЖ	—	—	—	60 мкл	4
СМЖ	—	—	—	30 мкл	7
СМЖ	—	—	—	15 мкл	13
СМЖ	1:2	50 мкл + 50 мкл	—	60 мкл	8
СМЖ	1:4	20 мкл + 60 мкл	—	60 мкл	16
СМЖ	1:8	10 мкл + 70 мкл	—	60 мкл	32
СМЖ	1:16	10 мкл + 150 мкл	—	60 мкл	64
СМЖ	1:32	10 мкл + 310 мкл	—	60 мкл	128

Расчет индекса антител:
Расчет индекса антител (ИА) позволит получить информацию о синтезе интеракальных антител, специфических для ВПГ типа 1 и 2 (т.е. антител, вырабатываемых в СМЖ). Обычно индекс антител варьируется от 0,6 до 1,3 (см. интерпретация результатов).
Для расчета ИА в первую очередь необходимы концентрации антител класса IgG, специфических для ВПГ типа 1 и 2 в сыворотке и в спинномозговой жидкости (СМЖ) с поправкой на факторы разведения. С их помощью определяется специфическое соотношение IgG (QIgG Spec):

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

$Q_{IgG\ Spec}$ = ($IgG_{CSF\ spec}$) / ($IgG_{\ serum\ spec}$)
= (ЕД/мл $_{СМЖ}$ х фактор разведения) / (ЕД/мл $_{сыворотка}$ х фактор разведения)
= (ЕД/мл СМЖ х фактор разведения) / (ЕД/мл сыворотка х фактор разведения) см. таблицу с факторами разведения

См. таблицу с факторами разведения

Определение ИА: $Q_{IgG\ Spec}$ / $Q_{IgG\ (1)}$

(Q_{IgG} = ($IgG_{СМЖ}$)/ ($IgG_{\ сыворотка}$)) = соотношение общего IgG. Требуется отдельное измерение другими способами!

Клиническая поправка:

Соотношение ИА (1) учитывает изменения в барьерной функции ликвора и крови, но не учитывает большого локального синтеза полиспецифических IgG в ЦНС, что приводит к повышению $Q_{\ IgG}$ и к получению ложно низких значений ИА.

Поэтому для более надежной клинической диагностики различных неврологических заболеваний важно проводить различие между

a) инфекциями с моноспецифической интратекальной иммунной реакцией, которая указывает на антиген-возбудитель инфекции, и

b) заболеваниями, при которых антитела синтезируются как вторичная полиспецифическая иммунная реакция в результате неспецифической стимуляции 8-клеточных линий.

Во избежание таких ложноотрицательных результатов при стандартном расчете ИА (1), H.Reiber предложил использовать пороговую функцию (полученную на основе эмпирических клинических данных), которая должна использоваться для скорректированного расчета ИА(с дополнительным требованием измерения альбумина: $Q_{A,b}$ = [$Alb_{СМЖ}$] / [$Alb_{сыворотка}$]):

$$Q_{lim}\ (IgG) = 0.93 \times \sqrt{(Q_{Alb})^2 + 6 \times 10^{-6}} - 1.7 \times 10^{-3}$$

В зависимости от этого порога расчет ИА имеет различие между двумя случаями:

ИА = $Q_{IgG\ Spec}$ / Q_{IgG} (если $Q_{IgG} < Q_{LIM\ (IgG)}$)) (моноспецифичная иммунная реакция) (2)

ИА = $Q_{IgG\ Spec}$ / $Q_{LIM\ (IgG)}$ (если $Q_{IgG} > Q_{LIM\ (IgG)}$)) (полиспецифичная иммунная реакция) (3)

Уравнение 2 используется в том случае, если Q_{IgG} обозначает барьерные условия, относящиеся к преимущественно полученной из крови белковой фракции в СМЖ без значительного локального полиспецифического синтеза IgG в ЦНС, , т.е. если $Q_{IgG} < Q_{LIM\ (IgG)}$

Уравнение 3 используется, если $Q_{IgG} > Q_{LIM\ (IgG)}$

Для упрощения вычислений можно использовать таблицу на компьютере. Компания «ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» подготовила такую таблицу в Excel и по запросу предоставляет ее заинтересованным клиентам, проводящим анализы Alegria® с использованием ликвора.

Интерпретация результатов

0.6 < ИА < 1.3 - нормальный диапазон

1.3 < ИА < 1.5 - неопределенный результат

ИА > 1.5 интратекальный синтез антител, специфических для ВПГ 1 и 2 типа

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Кроме того, решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Для образцов сыворотки крови или СМЖ со значениями ниже нижней границы диапазона измерений (зафиксированный результат теста <10 Ед/мл), индекс антител не может быть рассчитан. В зависимости от совокупности результатов (например, повышенные значения антител в СМЖ) можно рассмотреть возможность проведения повторного анализа с более низким разведением образца сыворотки крови человека. Значения ИА <0.6 свидетельствуют об ошибке метода. Все промежуточные результаты должны быть проверены на достоверность.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Приведенные выше референсные диапазоны соответствуют положениям Х. Райбера и должны рассматриваться только как рекомендации. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.
Результат ИА в пределах нормы не исключает наличие инфекции. Если образец взят на ранней стадии заболевания, индекс антител может находиться в пределах нормы. Повышенный ИА не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания. Высокие значения ИА могут сохраняться в течение многих лет после перенесенной инфекции.

Результаты исследования

			Результаты, полученные при использовании анализатора ALEGRIA						
Образец			A	B	C	D	E	F	G
Номер образца	Клинический диагноз	Результат IgG, сравнительный метод	ИА невозможно рассчитать (образец <10 ед/мл)	ИА < 1,3	ИА 1,3-1,5	ИА > 1,5	A + B	C+ D	ИА (IgM)
n = 7	Подозрение на нейроборрелиоз (острая инфекция)	6х ИА > 1,5 1х ИА 1,3-1,5			1 (14,3%)	6 (85,7%)		7 (100%)	5х ИА > 1,5 1 х ИА 1,3-1,5 1 х н/д
n =10	Синтез интеракальных IgX (перенесенная ранее инфекция)	10х ИА > 1,5		1* (10,0%)		9 (90,0%)	1* (10.0%)	9 (90.0%)	
n =43 (IgM n =39)	Прочие состояния	1Х ИА > 1,5 42х ИА< 1,3	13 (30.3%)	29 (67.4%)		1 (2,3%)	42 (97.7%)	1 (2,3%)	1Х ИА< 1,3 Образец х 38 < 10 ед/мл.

Для каждого представленного случая образцы сыворотки и СМЖ от каждого пациента исследовались параллельно.
Исследовано 17 случаев боррелиоза (7 случаев острого нейроборрелиоза 1 стадии и 10 случаев ранее перенесенного боррелиоза 2 стадии). 1 случай был сомнительным и не был принят во внимание.
В 15 из 16 случаев индекс антител ИА>1,5 указывал на синтез интратекальных антител, специфических для Borrelia, Таким образом, клиническая чувствительность составляет 93.8%.
Из 43 случаев неврологических заболеваний индекс антител составлял < 1,5, что указывает на отсутствие синтеза интратекальных антител, специфических для Borrelia, Таким образом, чувствительность составляет 97.7%.

		Сравнительный метод		
		ИА > 1,5	ИА < 1,5	
ORG 914GL	ИА > 1,5	22	1	
.	ИА < 1,5	0	30	
		22	31	53

]

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	96.8%
Общая согласованность:	98.1%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Reiber H. External quality assessment in clinical neurochemistry: survey of analysis for cerebrospinal fluid (CSF) proteins based on CSF/serum quotients. *Clin Chem* 1995 41: 256-263.

Reiber H. Die diagnostische Bedeutung neuroimmunologischer Reaktionsmuster im Liquor cerebrospinalis. *Lab Med* 1995 19: 444-462

2. Reiber H. and Peter J.B. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol.Sci* 2001. 164: 101-122.
3. Mygland A. et al. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. *EurJ Neurol.* 2010. 17:8-4.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. Huppertz H.l. et al. Rational diagnostic strategies for Lyme borreliosis in children and adolescents: recommendations by the Committee for Infectious Diseases and Vaccinations of the German Academy for Pediatrics and Adolescent Health. *EurJ Pediatr*2012. 171: 1619-1624.
5. Djukic M. et al. Cerebrospinal fluid findings in adults with acute Lyme neuroborreliosis. *J Neurol.* 2012. 259: 630 -636.

Для получения дополнительной информации о Borrelia в целом см. также инструкции к нашим тест-системам Alegria Anti-Borrelia IgG и IgM для определения антител в образцах сыворотки крови (ORG 911G и ORG 911MX).

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 914GL_IFU_EN_QM 141897_2016-03-10_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

912G_3

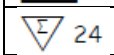
ORG 912G Anti-Parvovirus B19 IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Parvovirus B19 IgG предназначена для количественного определения антител класса IgG к паровирусу B19 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Парвовирус B19 является возбудителем «пятой болезни» (инфекционной эритемы). Анализ используется для дифференциации между острой инфекцией и предшествующим контактом с патогеном. Примерно спустя десять дней после инфицирования возможно определение антител класса IgM. Антитела класса IgG появляются вскоре после образования IgM или даже одновременно. Во многих случаях антитела IgG остаются после снижения первоначального ответа IgM и IgG и сохраняются течение всей жизни.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
912G_3	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Вирусоподобные частицы, состоящие из рекомбинантного VP2, высокой степени очистки связываются с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

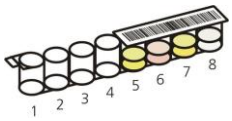
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Parvo B19 IgG*** на печатной этикетке ***Parvo-G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.
Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована по международному эталонному препарату ВОЗ (NIBSC код 01/602).

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-50 МЕ/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 3 МЕ/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 2 МЕ/мл
Пороговое значение	2 - 3 МЕ/мл
Положительный результат	> 3 МЕ/мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.
Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		МЕ/мл	МЕ/мл	(%)
ВОЗ	1:100	>50.0	77,0	
	1:200	37,4	38,5	97
	1:400	19,1	19,3	99
	1:800	8,3	9,6	86
2	1:100	23,0	23,0	100
	1:200	11,8	11,5	103
	1:400	5,9	5,8	103
	1:800	2,9	2,9	101
3	1:100	14,0	14,0	100

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	6,9	7,0	99
	1:400	3,4	3,5	97
	1:800	1,7	1,8	97

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 0,6 МЕ/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	2,9	6,4
2	7,7	2,9
3	11,9	3,5

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	2,6	5,5
2	8,3	6,6
3	12,1	4,5

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями orrelia sp., Chlamydia sp., Yersinia sp. или острой инфекции вирусом Эйнштейна-Барр (ВЭБ). Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 74 положительных результатов, эквивалентных 74%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

		Сравнительный метод		
		Пол.	Отр.	
ORG 912G	Пол.	240	1 *	
Anti-Parvovirus B19 IgG	Отр.	5 °	46	
		245	47	292

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Чувствительность:	98.0%
Специфичность:	97.9%
Общая согласованность:	97.9%

* образец признан положительным при применении второго сравнительного метода
° все 5 образцов признаны отрицательными при применении второго сравнительного метода

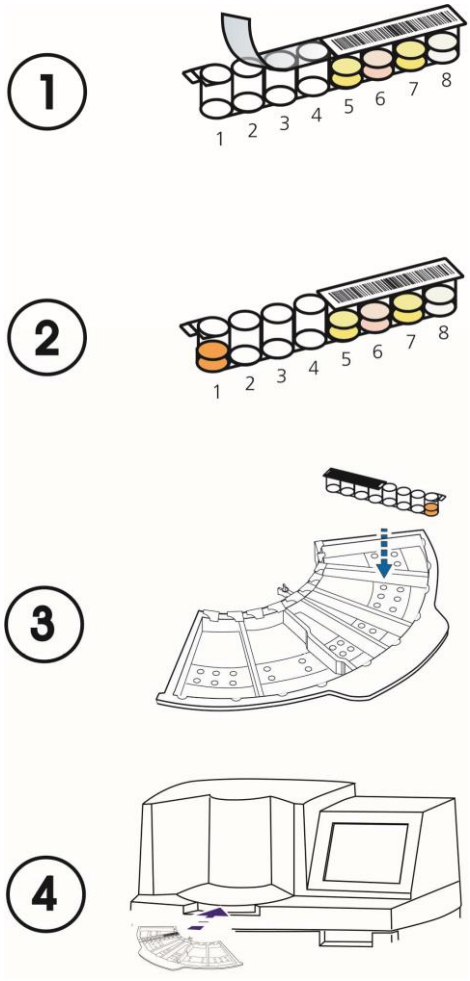
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Al-Khan A, Caligiuri A, Apuzzio J. Parvovirus 8-19 infection during pregnancy. Infect Dis Obstet Gynecol 2003; 11(3): 175-9.
2. Corcoran A, Doyle S. Advances in the biology, diagnosis and host-pathogen interactions of parvovirus B19. J Med Microbiol 2004; 53(Pt 6):459-75.
3. Enders M, Weidner A, Enders G. Current epidemiological aspects of human parvovirus B19 infection during pregnancy and childhood in the western part of Germany. Epidemiol Infect 2007; 135(4):563-9.
4. Lamont RF, Sobel JD, Vaisbuch E, Kusanovic JP, Mazaki-Tovi S, Kim SK et al. Parvovirus B19 infection in human pregnancy. BJOG 2011; 118(2):175-86.
5. Manaresi E, Gallinella G, Morselli Labate AM, Zucchelli P.Zaccarelli D, Ambretti S et al. Seroprevalence of IgG against conformational and linear capsid antigens of parvovirus Bl9 in Italian blood donors. Epidemiol Infect 2004; 132(5):857-62.
6. Rohrer C, Gartner B, Sauerbrei A, Bohm S, Hottentrager B, Raab U et al. Seroprevalence of parvovirus B19 in the German population. Epidemiol Infect 2008; 136(11):1564-75.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 912G_IFU_EN_QM122191_2014-06-26_2*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

912MX_5

ORG 912MX Anti-Parvovirus B19 IgM Abs.

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Parvovirus B19 IgM (с абсорбентом) для Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgM к паровирусу B19 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения. В состав тест-системы Alegria® для определения антител класса IgM к паровирусу B19 (с абсорбентом) входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ).

Парвовирус B19 является возбудителем «пятой болезни» (инфекционной эритемы). Анализ используется для дифференциации между острой инфекцией и предшествующим контактом с патогеном. Примерно спустя десять дней после инфицирования возможно определение антител класса IgM. Антитела класса IgG появляются вскоре после образования IgM или даже одновременно. Во многих случаях антитела IgG остаются после снижения первоначального ответа IgM и IgG и сохраняются течение всей жизни.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
912MX_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Вирусоподобные частицы, состоящие из рекомбинантного VP2, высокой степени очистки связываются с реакционными лунками.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

Ревматоидный фактор (РФ) может влиять на результат определения антител класса IgM в серологии инфекционных заболеваний. Этого можно избежать, используя абсорбент РФ. В состав тест-системы Alegria® входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ). Поглощение происходит во время обработки образцов в анализаторе Alegria®. Подготовка или предварительное разведение образцов не требуется.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

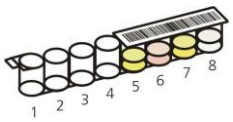
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Parvo B19 IgM Ab*** на печатной этикетке ***Parvo- MX***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Alegria®.
Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед/мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед/мл.
Пороговое значение	20- 25 ед/мл.
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Не применимо. Данный анализ является нелинейным количественным определением, т.к. буфер образца содержит абсорбент РФ.

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 2,4 ед/мл.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	2,4	4,7
2	31,4	2,2
3	139,7	2,2

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	3,0	6,2
2	24,9	4,7
3	127,6	5,3

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями Borrelia sp., Chlamydia sp., Yersinia sp. Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител. В образцах, взятых у пациентов с острой инфекцией вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), была обнаружена более высокая серопревалентность, возможно, вызванная поликлональной стимуляцией В-лимфоцитов у этих пациентов.

Помех, вызванных ревматоидными факторами, можно избежать за счет применения абсорбента РФ в буфере для разведения образцов в лунках тест-полосок Alegria®.

Серопревалентность

Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 1 положительный результат, эквивалентный 1%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

		Сравнительный метод		
		Пол.	Отр.	
ORG 912MX Anti-Parvo B19 IgM Abs	Пол.	34	1	
	Отр.	0	335	
		34	336	370

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	99.7%
Общая согласованность:	99.7%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Al-Khan A, Caligiuri A, Apuzzio J. Parvovirus 8-19 infection during pregnancy. Infect Dis Obstet Gynecol 2003; 11(3): 175-9.

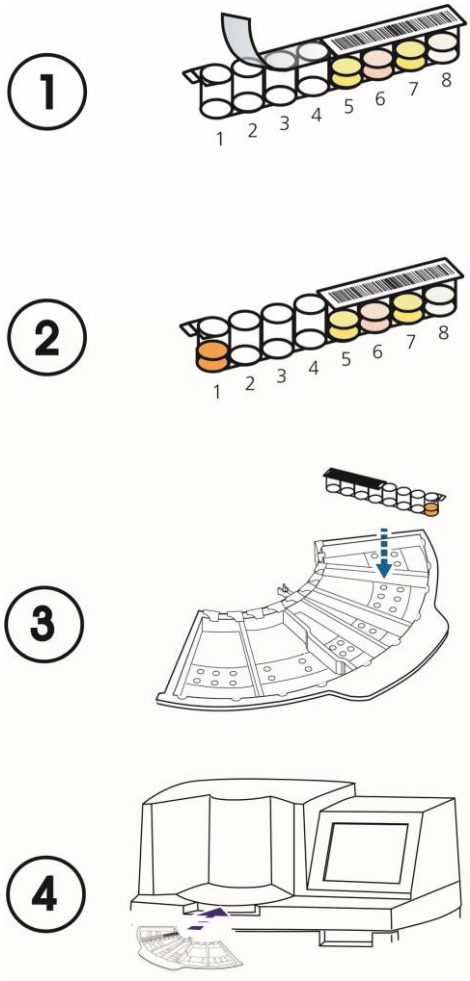
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2. Corcoran A, Doyle S. Advances in the biology, diagnosis and host-pathogen interactions of parvovirus B19. J Med Microbiol 2004; 53(Pt 6):459-75.
3. Enders M, Weidner A, Enders G. Current epidemiological aspects of human parvovirus B19 infection during pregnancy and childhood in the western part of Germany. Epidemiol Infect 2007; 135(4):563-9.
4. Lamont RF, Sobel JD, Vaisbuch E, Kusanovic JP, Mazaki-Tovi S, Kim SK et al. Parvovirus B19 infection in human pregnancy. BJOG 2011; 118(2):175-86.
5. Manaresi E, Gallinella G, Morselli Labate AM, Zucchelli P.Zaccarelli D, Ambretti S et al. Seroprevalence of IgG against conformational and linear capsid antigens of parvovirus Bl9 in Italian blood donors. Epidemiol Infect 2004; 132(5):857-62.
6. Rohrer C, Gartner B, Sauerbrei A, Bohm S, Hottentrager B, Raab U et al. Seroprevalence of parvovirus B19 in the German population. Epidemiol Infect 2008; 136(11):1564-75.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 912MX_IFU_EN_QM 122192_2016-05-30_4*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

919GL_4

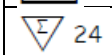
ORG 919GL Anti-Rubella Virus IgG Liquor

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Rubella Virus IgG Liquor для анализатора Alegria® предназначена для сравнительного количественного определения антител класса IgG к краснухе методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека, или спинномозговой жидкости. Данный количественный анализ предназначен для определения синтеза антител IgG в центральной нервной системе. Он не подходит для обнаружения антител класса IgG к краснухе только в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Данный анализ применим для выявления синтеза антител класса IgG в центральной нервной системе, указывающих на неврологические осложнения краснухи, например, энцефалит. При хронических заболеваниях с поражением ЦНС, например, рассеянном склерозе (РС) или волчанке с неврологическими проявлениями, в СМЖ может быть обнаружен повышенный индекс антител к вирусу кори, краснухи и/или вирусу ветряной оспы. Подобная MRZ-реакция выявляется примерно у 90% пациентов с РС.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
919GL_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Очищенные инактивированные частицы вируса краснухи (штамм HPV-77) связываются с реакционными лунками.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
Образец спинномозговой жидкости и соответствующий образец сыворотки от одного и того же пациента должны быть исследованы в одной и той же серии испытаний. Для параллельного проведения обоих анализов необходимы две тест-полоски - одна для спинномозговой жидкости и одна для сыворотки.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

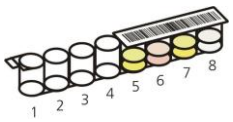
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***Rub SerCSF IgG*** на печтаной этикетке: ***Rube-L-G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

Руководство пользователя анализатора Alegria® Мини-DVD Alegria®

1 Сертификат анализа

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетки на 10 мкл, пипетки с варьируемым объемом дозирования на 10-100 мкл и 100-1000 мкл
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы крови и спинномозговой жидкости должны быть отобраны у пациента в один и тот же день.
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Образцы должны быть чистыми и негемолизированными.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Избегайте повторного замораживания и размораживания образцов. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием образцов.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Для проведения данного анализа образцы спинномозговой жидкости и сыворотки или плазмы крови должны иметь схожую концентрацию белка.
- Поскольку концентрация спинномозговой жидкости намного ниже, чем сыворотки или плазмы крови, необходимо предварительное разбавление образцов сыворотки.
- Для получения значений в пределах диапазона измерения предварительное разбавление образцов сыворотки/плазмы может быть различным для каждого параметра в зависимости от серопревалентности.

Образцы спинномозговой жидкости также могут быть предварительно разбавлены или использованы в меньшем объеме, если предполагается наличие высокой концентрации антител.

- Рекомендуется предварительно разбавить образец сыворотки или плазмы крови готовым к использованию буферным раствором для промывки.

Приготовление образцов зависит от панели образцов и может отличаться в разных лабораториях. Эмпирические значения для предварительного разведения (сыворотка/плазма) и объема (СМЖ)

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	Предварительное разведение	Сыворотка/плазма+Буферный раствор для промывки	СМЖ
ORG 901 GL Тест-система для определения антител класса IgG к капсидному антигену вируса Эпштейна-Барр	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG905GL Тест-система для обнаружения антител класса IgG к вирусу простого герпеса I и II типа	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG 909GL Тест-система для определения антител класса IgG к вирусу кори	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG911GL Тест-система для определения антител класса IgG к Borrelia	1:4	20 мкл + 60 мкл	60 мкл
ORG 911 ML Тест-система для определения антител класса IgM к Borrelia	1:4	20 мкл + 60 мкл	60 мкл
ORG914GL Тест-система для определения антител класса IgG к вирусу ветряной оспы	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл
ORG919GL Тест-система для определения антител класса IgG к краснухе	1:8 1:16	10 мкл + 70 мкл 10 мкл + 150 мкл	30 мкл

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

Используйте одну тест полоску Alegria® для СМЖ и одну для сыворотки. Различия в обработке:

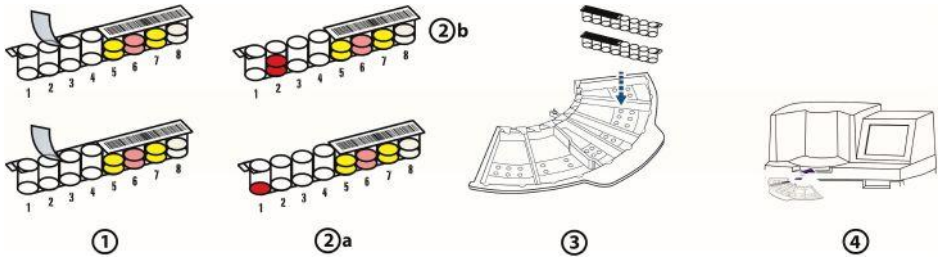
(2a) Тест-полоска для сыворотки: При помощи пипетки перенесите 10 мкл предварительно разбавленного образца сыворотки или плазмы на дно лунки 1.

(2b) Тест-полоска для спинномозговой жидкости: При помощи пипетки перенесите 30 мкл неразбавленной СМЖ на дно лунки 2.

(2) Установите полоску в системный лоток SysTray

(3) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 10-200 ед./мл.

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 10 ед/мл

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, образцы, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для промывки.

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов сыворотки по результатам 20 определений за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов сыворотки по результатам 2 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	36,1	9,2
2	48,2	8,5
3	167,0	6,7

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	36,6	9,1
2	49,3	7,7
3	181,2	6,8

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов сыворотки/плазмы крови человека. Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина).

Не было обнаружено каких-либо помех при наличии образцов, инфицированных бактериями Т.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

pallidum, Chlamydia sp., Yersinia sp. паровирусом B19 или острой инфекции вирусом Эйнштейна-Барр (ВЭБ).
Также не наблюдалось каких-либо помех при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ
С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет результатов выполняется автоматически.

РАСЧЕТ ИНДЕКСА АНТИТЕЛ (ИА)
Для расчета индекса антител требуется проведение анализа альбумина и общего IgG в сыворотке и в СМЖ альтернативными методами, которые не включены в настоящую тест-систему. Концентрацию общего IgG и альбумина следует измерять методами, которые обычно используются в лабораториях, исследующих неврологические заболевания.

Как правило, для определения концентрации антител в образцах достаточно использования неразбавленной СМЖ и предварительного разбавленного образца сыворотки в пропорции 1:4, как рекомендовалось ранее. Иногда результаты анализа могут превышать верхний предел диапазона измерений (> 200 Ед/мл) для отдельных образцов. Следует провести повторный анализ таких образцов с более высокими разведениями для правильного расчета концентрации антител. При использовании образцов СМЖ можно пипетировать меньшие объемы неразбавленной СМЖ в лунку 2 или провести предварительное разбавление готовым к использованию буферным раствором для промывки.
Возможные предварительные разведения и объемы пипетирования, а также полученные факторы разведения приведены в таблице разведения ниже:

образец	Предварительное разведение	Образец + Буферный раствор для промывки	Лунка 1: мкл	Лунка 2: мкл	Коэффициент разведения
Сыворотка	1:4	20 мкл + 60 мкл	10 мкл	—	381
Сыворотка	1:8	10 мкл + 70 мкл	10 мкл	—	762
Сыворотка	1:16	10 мкл + 150 мкл	10 мкл	—	1524
Сыворотка	1:32	10 мкл + 310 мкл	10 мкл	—	3048
Сыворотка	1:64	10 мкл + 630 мкл	10 мкл	—	6096
Сыворотка	1:128	10 мкл + 1270 мкл	10 мкл	—	12192
образец	Предварительное	Образец + Буферный раствор для промывки	Лунка 1: мкл	Лунка 2: мкл	Коэффициент разведения
СМЖ	—	—	—	60 мкл	4
СМЖ	—	—	—	30 мкл	7
СМЖ	—	—	—	15 мкл	13
СМЖ	1:2	50 мкл + 50 мкл	—	60 мкл	8
СМЖ	1:4	20 мкл + 60 мкл	—	60 мкл	16
СМЖ	1:8	10 мкл + 70 мкл	—	60 мкл	32
СМЖ	1:16	10 мкл + 150 мкл	—	60 мкл	64
СМЖ	1:32	10 мкл + 310 мкл	—	60 мкл	128

Расчет индекса антител:
Расчет индекса антител (ИА) позволит получить информацию о синтезе интеракальных антител, специфических для краснухи (т.е. антител, вырабатываемых в СМЖ). Обычно индекс антител варьируется от 0,6 до 1,3 (см. интерпретация результатов).
Для расчета ИА в первую очередь необходимы концентрации антител класса IgG, специфических для краснухи в сыворотке и в спинномозговой жидкости (СМЖ) с поправкой на факторы

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

разведения. С их помощью определяется специфическое соотношение IgG (QIgG Spec):

$Q_{IgG\ Spec} = (IgG_{CSF\ spec}) / (IgG_{\ serum\ spec})$
= (ЕД/мл $_{СМЖ}$ х фактор разведения) / (ЕД/мл $_{сыворотка}$ х фактор разведения)
= (ЕД/мл СМЖ х фактор разведения) / (ЕД/мл сыворотка х фактор разведения) см. таблицу с факторами разведения

См. таблицу с факторами разведения

Определение ИА: $Q_{IgG\ Spec} / Q_{IgG\ (1)}$
($Q_{IgG} = (IgG_{СМЖ})/ (IgG_{\ сыворотка})$) = соотношение общего IgG. Требуется отдельное измерение другими способами!

Клиническая поправка:

Соотношение ИА (1) учитывает изменения в барьерной функции ликвора и крови, но не учитывает большого локального синтеза полиспецифических IgG в ЦНС, что приводит к повышению $Q_{\ IgG}$ и к получению ложно низких значений ИА.

Поэтому для более надежной клинической диагностики различных неврологических заболеваний важно проводить различие между

a) инфекциями с моноспецифической интратекальной иммунной реакцией, которая указывает на антиген-возбудитель инфекции, и

b) заболеваниями, при которых антитела синтезируются как вторичная полиспецифическая иммунная реакция в результате неспецифической стимуляции 8-клеточных линий.

Во избежание таких ложноотрицательных результатов при стандартном расчете ИА (1), H.Reiber предложил использовать пороговую функцию (полученную на основе эмпирических клинических данных), которая должна использоваться для скорректированного расчета ИА(с дополнительным требованием измерения альбумина: $Q_{A,b} = [Alb_{СМЖ}] / [Alb_{сыворотка}]$):

$$Q_{lim}\ (IgG) = 0.93 \times \sqrt{(Q_{Alb})^2 + 6 \times 10^{-6}} - 1.7 \times 10^{-3}$$

В зависимости от этого порога расчет ИА имеет различие между двумя случаями:
$ИА = Q_{IgG\ Spec} / Q_{IgG}$ (если $Q_{IgG} < Q_{LIM\ (IgG)}$)) (моноспецифичная иммунная реакция) (2)
$ИА = Q_{IgG\ Spec} / Q_{LIM\ (IgG)}$ (если $Q_{IgG} > Q_{LIM\ (IgG)}$)) (полиспецифичная иммунная реакция) (3)

Уравнение 2 используется в том случае, если Q_{IgG} обозначает барьерные условия, относящиеся к преимущественно полученной из крови белковой фракции в СМЖ без значительного локального полиспецифического синтеза IgG в ЦНС, , т.е. если $Q_{IgG} < Q_{LIM\ (IgG)}$
Уравнение 3 используется, если $Q_{IgG} > Q_{LIM\ (IgG)}$

Для упрощения вычислений можно использовать таблицу на компьютере. Компания «ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» подготовила такую таблицу в Excel и по запросу предоставляет ее заинтересованным клиентам, проводящим анализы Alegria® с использованием ликвора.

Интерпретация результатов
0.6 < ИА < 1.3 - нормальный диапазон
1.3 < ИА < 1.5 - неопределенный результат
ИА > 1.5 интратекальный синтез антител, специфических для ВПГ 1 и 2 типа

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Кроме того, решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Для образцов сыворотки крови или СМЖ со значениями ниже нижней границы диапазона измерений (зафиксированный результат теста <10 Ед/мл), индекс антител не может быть рассчитан. В зависимости от совокупности результатов (например, повышенные значения антител в СМЖ) можно рассмотреть возможность проведения повторного анализа с более низким

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

разведением образца сыворотки крови человека. Значения ИА <0.6 свидетельствуют об ошибке метода. Все промежуточные результаты должны быть проверены на достоверность.
Приведенные выше референсные диапазоны соответствуют положениям Х. Райбера и должны рассматриваться только как рекомендации. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.
Результат ИА в пределах нормы не исключает наличие инфекции. Если образец взят на ранней стадии заболевания, индекс антител может находиться в пределах нормы. Повышенный ИА не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания. Высокие значения ИА могут сохраняться в течение многих лет после перенесенной инфекции.

Результаты исследования

		Сравнительный метод		
		ИА > 1,5	ИА < 1,5	
ORG 919GL	ИА > 1,5	20	1	
.	ИА < 1,5	0	34	
		20	35	55

]

Чувствительность:	100.0%
Специфичность:	97.1%
Общая согласованность:	98.2%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. http://www.horeiber.de/cerebrospinal.html
2. H. Reiber, J. B. Peter: Cerebrospinal Fluid Analysis: disease related data patterns and evaluation programs 2001, J. Neurol. Sei. 184: 101-122
3. Jarius.S., Eichhorn,P., Wildemann,B., and Wick,M., Usefulness of antibody index assessment in cerebrospinal fluid from patients negative for total-1 gG oligoclonal bands. Fluids Barriers.CNS. 2012. 9: 14.
4. Center for Disease Control and Prevention: Recommendations from an Ad Hoc Meeting of the WHO Measles and Rubella Laboratory Network (LabNet) on Use of Alternative Diagnostic Samples for Measles and Rubella Surveillance. Morbidity Mortality Weekly Report 2008, 57:657-660.
5. Chaari,A., Bahloul.M., Berrajah,L., Ben,K.S., Gharbi,N., Karray.H., and Bouaziz,M., Childhood rubella encephalitis: diagnosis, management, and outcome. J Child Neurol. 2014. 29: 49-53
6. Bahloul.M., Chaari.A., Ammar,R., Medhioub.F., Chabchoub,!., Karray.H., Berrajah.L., Dammak.H., Ben.H.C., Chelly.H., and Bouaziz.M., Management of severe rubella encephalitis requiring intensive care unit admission. J Infect 2013. 66: 109-111
7. Denne.C., Kleines,M., Dieckhofer.A., Ritter,K., Scheithauer,S., Merz.U., and Hausler,M., Intrathecal synthesis of anti-viral antibodies in pediatric patients. Eur J Paediatr.Neurol. 2007.11: 29-34.
8. Borman,M., Intrathecal IgG synthesis: a resistant and valuable target for future multiple sclerosis treatments. Mult.Scler.lnt 2015. 2015: 296184.
9. Jacobi,C., Lange,P., and Reiber,H., Quantitation of intrathecal antibodies in cerebrospinal fluid of subacute sclerosing panencephalitis, herpes simplex encephalitis and multiple sclerosis: discrimination between microorganism-driven and polyspecific immune response. J Neuroimmunol. 2007. 187: 139-146.
10. Marcus,J.F. and Waubant.E.L., Updates on clinically isolated syndrome and diagnostic criteria for multiple sclerosis. Neurohospitalist. 2013. 3: 65-80.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 919GL_IFU_EN_QM 141898_2016-03-10_3*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

921G_2

ORG 921G Anti-Hepatitis E Virus IgG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Hepatitis E Virus IgG для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения антител класса IgG к вирусу гепатита E методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Поскольку случаи заражения гепатитом E клинически невозможно отличить от других видов острого вирусного гепатита, необходимо всегда учитывать гепатит E при дифференциальной диагностике острого гепатита. Тест на антитела IgM дает, как правило, положительный результат примерно через четыре недели после заражения, когда начинают проявляться клинические симптомы. Затем наблюдается рост антител IgG, количество которых достигает своего максимума примерно через четыре недели.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
921G_2	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Лунки планшета покрыты рекомбинантным антигеном ORF2 ВГЕ 1 и 3 генотипов. Вследствие перекрестной реактивности также можно выявить 2 и 4 генотипы.
В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

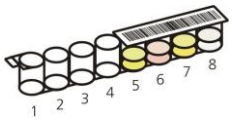
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***HEVIgG*** на печатной этикетке ***HEV-G***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 9 месяцев со дня изготовления.

Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.
Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.
Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	%
1	1:100	143,5	143,5	100
	1:200	76,4	71,8	106
	1:400	36,1	35,9	101
	1:800	18,4	17,8	103
2	1:100	98,4	98,4	100
	1:200	47,5	49,2	97
	1:400	23,4	24,6	95
	1:800	12,5	12,3	101

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3	1:100	69,9	69,9	100
	1:200	33,5	34,9	96
	1:400	17,1	17,5	98
	1:800	9,4	8,9	107

Предел обнаружения
Минимальное обнаруживаемое количество антител: 1,9 ед/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	22,4	2,6
2	77,5	4,2
3	113,4	2,4

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	16,8	8,4
2	38,6	6,6
3	134,5	4,2

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.
Помех при острой ЭБВ-инфекции и при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител, не наблюдалось.

Серопревалентность
Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 7 положительных результатов, эквивалентных 7%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

		Сравнительный метод Пол.	Отр.	
ORG 921G	Пол.	23	2	
Anti-Hepatitis E Virus IgG	Отр.	2	297	
		25	299	324

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Чувствительность:	92.0%
Специфичность:	99,3%
Общая согласованность:	98,8%

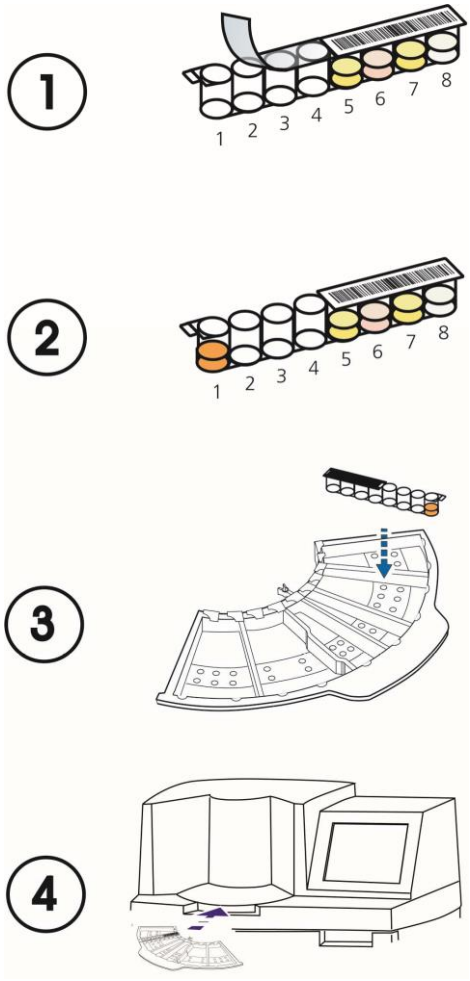
СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Ahmad, I. et al., Molecular Virology of Hepatitis E Virus, 2011, Virus Res 161(1): 47-58
2. Chandra, V. et al., Molecular biology and pathogenesis of hepatitis E virus, 2008, J Biosci 33(4):451-464
3. Teshale, E.H. et al., The Two Faces of Hepatitis E Virus, 2010, Clin Infect. Dis 2010; 51(3):328-334
4. Zhao, Q. et al., Antigenic determinants of hepatitis E virus and vaccine-induced immunogenicity and efficacy, 2013, J Gastroenterol 48:159-168
5. Osterman et al. , Systematic screening for novel, serologically reactive Hepatitis E Virus epitopes, 2012, Virology J 9:28

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 921 G_IFU_EN_QM151845_2016-02-01_1.1*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

921MX_2

ORG 921MX Anti-Hepatitis E Virus IgM Abs.

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Hepatitis E Virus IgM для анализатора Alegria® (с абсорбентом) предназначена для количественного определения антител класса IgM к вирусу гепатита Е методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения. В состав тест-системы Alegria® для определения антител класса IgM к вирусу гепатита Е (с абсорбентом) входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ).

Поскольку случаи заражения гепатитом Е клинически невозможно отличить от других видов острого вирусного гепатита, необходимо всегда учитывать гепатит Е при дифференциальной диагностике острого гепатита. Тест на антитела IgM дает, как правило, положительный результат примерно через четыре недели после заражения, когда начинают проявляться клинические симптомы. Затем наблюдается рост антител IgG, количество которых достигает своего максимума примерно через четыре недели.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
921MX_2	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Лунки планшета покрыты рекомбинантным антигеном ORF2 ВГЕ 1 и 3 генотипов. Вследствие перекрестной реактивности также можно выявить 2 и 4 генотипы.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

Ревматоидный фактор (РФ) может влиять на результат определения антител класса IgM в серологии инфекционных заболеваний. Этого можно избежать, используя абсорбент РФ. В состав тест-системы Alegria® входят тест-полоски, содержащие абсорбент ревматоидного фактора (РФ). Поглощение происходит во время обработки образцов в анализаторе Alegria®. Подготовка или предварительное разведение образцов не требуется.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

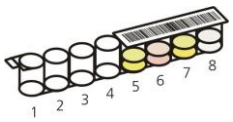
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: ***HEVIgM Ab*** на печатной этикетке ***HEV-MX***

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 9 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Alegria®.
Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray.

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство.

Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-200 ед./мл.

Ожидаемые значения

Пороговое значение для данного анализа Alegria® составляет 25 ед/мл

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 20 ед./мл
Пороговое значение	20- 25 ед/мл
Положительный результат	> 25 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше эталонные диапазоны следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные нормальные и аномальные диапазоны антител в образцах пациентов.

Отрицательный результат не позволяет исключить инфекцию, т.к., возможно, сыворотка была получена слишком рано и антитела еще не могут быть обнаружены. Положительный результат не исключает другие инфекционные патогены, которые могут быть причиной заболевания.

Линейность

Не применимо. Данный анализ является нелинейным количественным определением, т.к. буфер образца содержит абсорбент РФ.

Предел обнаружения

Минимальное обнаруживаемое количество антител: 1,3 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	21,4	2,0
2	22,5	2,0
3	194,5	3,9

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	14,9	4,4
2	21,3	2,7
3	166,1	12,0

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 500 мг/дл) или липемичным (до 0,5 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 10 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Помех при острой ЭБВ-инфекции и при ревматических заболеваниях, связанных с повышенными титрами ревматоидных факторов или антинуклеарных антител, не наблюдалось.

Серопревалентность

Анализ образцов 100 здоровых доноров крови из Германии показал 0 положительных результатов, эквивалентных 0%-ой серопревалентности.

Результаты исследования

		Сравнительный метод Пол.	Отр.	
ORG 921MX	Пол.	10	1 *	
Anti-Hepatitis E Virus IgM Abs	Отр.	3 *	338	
		13	339	352

*4 образца здоровых доноров крови без проявлений инфекции вируса гепатита Е.

Чувствительность:	76.9%
Специфичность:	99.7%
Общая согласованность:	98.9%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

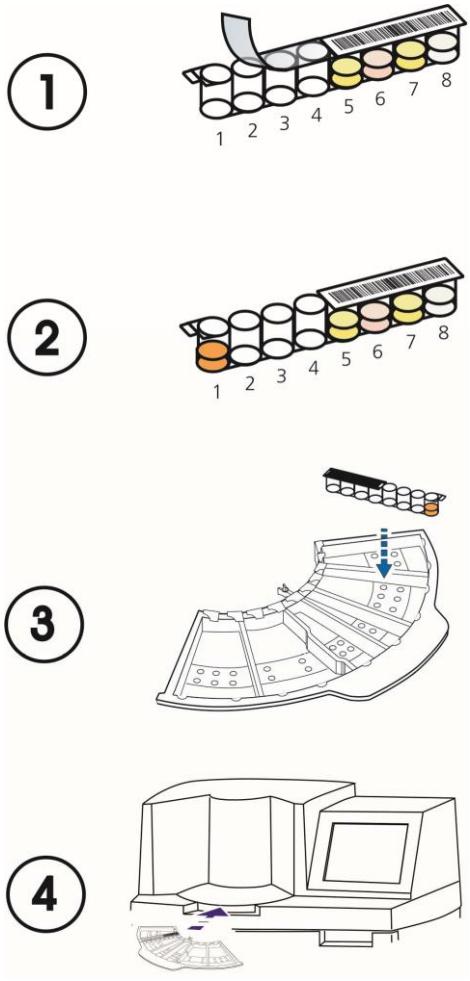
1. Ahmad, I. et al., Molecular Virology of Hepatitis E Virus, 2011, Virus Res 161(1): 47-58
2. Chandra, V. et al., Molecular biology and pathogenesis of hepatitis E virus, 2008, J Biosci 33(4):451-464
3. Teshale, E.H. et al., The Two Faces of Hepatitis E Virus, 2010, Clin Infect. Dis 2010; 51(3):328-334
4. Zhao, Q. et al., Antigenic determinants of hepatitis E virus and vaccine-induced immunogenicity and efficacy, 2013, J Gastroenterol 48:159-168

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5. Osterman et al. , Systematic screening for novel, serologically reactive Hepatitis E Virus epitopes, 2012, Virology J 9:28

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 921MX_IFU_EN_QM151844_2016-02*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

200_4

ORG 202 Anti-TG

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-TG предназначена для количественного определения антител класса IgG к тиреоглобулину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Аутоиммунные заболевания щитовидной железы связаны с появлением аутоантител, направленных против антигенов клеток щитовидной железы: тиреоглобулина (ТГ) и тиреоидной пероксидазы (ТПО). Анализ помогает дифференциальной диагностике аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, например, аутоиммунного тиреоидита , болезни Грейвса.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
200_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Человеческий тиреоглобулин высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

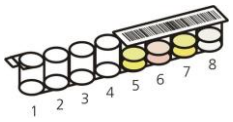
попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **A-TG** на печатной этикетке: **Anti-TG**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 С. После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

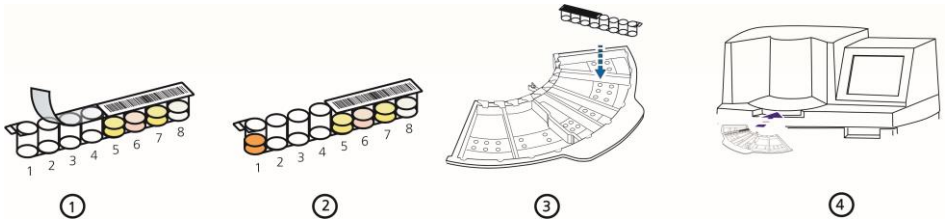
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА
Аналитическая система калибруется по международному эталонному препарату ВОЗ 65/93 для антител к тиреоглобулину на уровне 1000 МЕ/мл.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ
С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений
Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-9000 МЕ/мл.

Ожидаемые значения
В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 150 МЕ/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 100 МЕ/мл
Пороговое значение	100 - 150 МЕ/мл
Положительный результат	> 150 МЕ/мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ
Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.
Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность
Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		МЕ/мл	МЕ/мл	(%)
1	1:100	8841,0	8841,0	100
.	1:200	4606,0	4420,0	104
.	1:400	2186,0	2210,0	99
.	1:800	1053,0	1105,0	95
2	1:100	1123,0	1123,0	100
.	1:200	536,0	561,0	96
.	1:400	296,0	281,0	105
.	1:800	145,0	140,0	104

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3	1:100	398,0	398,0	100
.	1:200	207,0	199,0	104
.	1:400	95,0	100,0	96
.	1:800	53,0	50,0	107

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 10 МЕ/мл.

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	313,0	4,9
2	918,0	2,8
3	2914,0	5,3

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	361,0	5,8
2	1018,0	6,0
3	2229,0	6,8

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Аутоиммунный тиреоидит, болезнь Грейвса	130	125	96,2
Нормальная человеческая сыворотка	150	5	3,3

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 202	Пол.	125	5	
Anti-TG	Отр.	5	145	
		130	150	280

Чувствительность:	96.2 %
Специфичность:	96.7 %
Общая согласованность:	96.4 %

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Becker, W., Reiners, C., Börner, W. Immunologische Kriterien zur Differentialdiagnose von Schilddrüsen- erkrankungen. Therapiewoche 1985; 35: 1167 - 1176.
2. Czarnocka, B., Ruf, J., Ferrand, M. et al. Purification of the human thyroid peroxidase and its identification as the microsomal antigen involved in autoimmune thyroid diseases. FEBS Lett. 1985; 190: 147 - 152.
3. Czarnocka, B., Ruf, J., Ferrand, M. et al. Interaction of highly purified thyroid peroxidase with anti-microsomal antibodies in autoimmune thyroid diseases. J. Endocrinol. Invest. 1986; 9:135 - 138.
4. Ruf, J., Czarnocka, B., Ferrand, M. et al. Thyroid peroxidase is the organ-specific 'microsomal' antigen involved in thyroid autoimmunity. Acta Endocrinol. (Copenhagen) 1987; Suppl. 281: 49–55
5. Ruf, J., Czarnocka, B., Ferrand, M. et al. Relationship between immunological structure andbiochemical properties of human thyroid peroxidase. Endocrinology 1988; Vol. 125 (3): 1211 - 1218.
6. Horster, F. A. Die Bedeutung von MAK, TAK, TRAK und Thyreoglobulin bei der Diagnose von Schilddrüsenkrankheiten. Internist 1988; 29: 538 – 540
7. Schatz, H., Löbig, H. Diagnostische und prognostische Bedeutung von Antikörpern gegen Schilddrüsenmikrosomen und Thyreoglobulin. Akt. Endokr. Stoffw. 1989; 10: 146 - 153.
8. Hashimoto, H. Zur Kenntnis der lymphomatösen Veränderung der Schilddrüse (Struma lymphomatosa). Arch. Klin. Chir. 1912; 97: 219 - 248.
9. Libert, F., Ruel, J., Ludgate, M. et al. Thyroperoxidase, an auto-antigen with a mosaic structure made of nuclear and mitochodrial gene modules. EMBO J. 1987; 6: 4193 - 4196.
10. McKenzie, J. M., Zakarija, M., Sato, A. Humoral immunity in Graves' disease. Clin. Endocrinol. Metab. 1978; 7: 31 - 45.
11. Scherbaum, W. A., Berg, P. A. Bedeutung von Autoantikörpern in der Diagnostik endokrinologischer Erkrankungen. Dtsch. Med. Wschr. 1981; 106: 308 - 313.
12. Scherbaum, W. A., Berg, P. A. Autoimmune Schilddrüsenerkrankungen - Neuere Aspekte zur Pathogenese und Diagnostik. Dtsch. Med. Wschr. 1984; 109: 1574 - 1581.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):

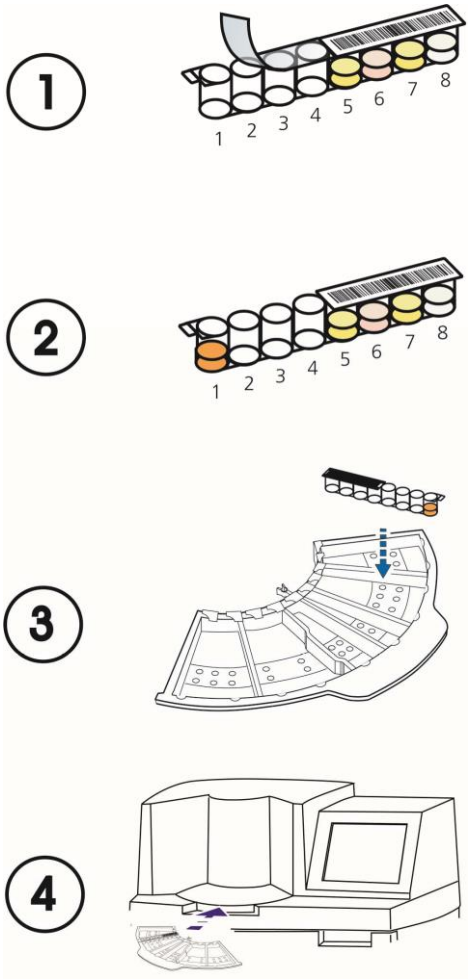
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями

Предыдущая версия: *ORG 202_IFU_EN_QM113043_2014-06-26_2*

Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

203_4

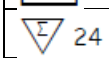
ORG 203 Anti-TPO

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-TPO предназначена для количественного определения антител класса IgG к тиреоидной пероксидазе методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Аутоиммунные заболевания щитовидной железы связаны с появлением аутоантител, направленных против антигенов клеток щитовидной железы: тиреоглобулина (ТГ) и тиреоидной пероксидазы (ТПО). Анализ помогает дифференциальной диагностике аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, например, аутоиммунного тиреоидита , болезни Грейвса.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
203_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Человеческая тиреоидная пероксидаза высокой степени очистки связывается с реакционными лунками.

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

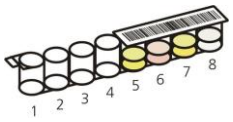
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **TPO** на печатной этикетке: **Anti-TPO**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 С. После переноса в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

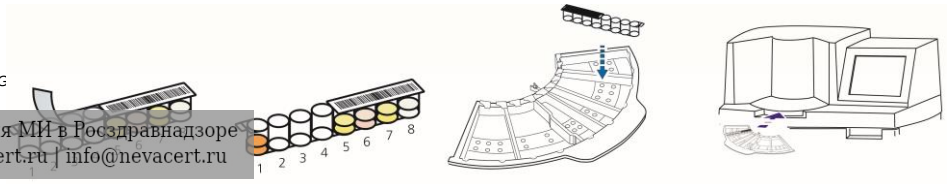
(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



ORG
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КАЛИБРОВКА

Аналитическая система калибруется по международному эталонному препарату ВОЗ MRC66/387 для антител к тиреоидной пероксидазе на уровне 1000 МЕ/мл.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-3000 МЕ/мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 75 МЕ/мл.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат	< 50 МЕ/мл
Пороговое значение	50 - 75 МЕ/мл
Положительный результат	> 75 МЕ/мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		МЕ/мл	МЕ/мл	(%)
1	1:100	2143,0	2143,0	100
.	1:200	1102,0	1072,0	103
.	1:400	524,0	536,0	98
.	1:800	258,0	268,0	96
2	1:100	1858,0	1858,0	100
.	1:200	944,0	929,0	102
.	1:400	453,0	464,0	97

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

.	1:800	210,0	232,0	90
3	1:100	1597,0	1597,0	100
.	1:200	835,0	799,0	105
.	1:400	416,0	399,0	104
.	1:800	221,0	200,0	111

Чувствительность
Функциональная чувствительность составила: 5 МЕ/мл

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	249,0	4,8
2	451,0	4,9
3	1811,0	2,7

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, МЕ/мл	КВ, %
1	250,0	3,4
2	450,0	2,8
3	1969,0	8,5

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n pos	%
Аутоиммунный тиреоидит, болезнь Грейвса	130	126	96,9
Нормальная человеческая сыворотка	150	2	1,3

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 203	Пол.	126	2	
Anti-TPO	Отр.	4	146	
		130	150	280

Чувствительность:	96.9 %

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Специфичность:	98.7 %
Общая согласованность:	97.9 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Becker, W., Reiners, C., Börner, W. Immunologische Kriterien zur Differentialdiagnose von Schilddrüsen- erkrankungen. Therapiewoche 1985; 35: 1167 - 1176.
2. Czarnocka, B., Ruf, J., Ferrand, M. et al. Purification of the human thyroid peroxidase and its identification as the microsomal antigen involved in autoimmune thyroid diseases. FEBS Lett. 1985; 190: 147 - 152.
3. Czarnocka, B., Ruf, J., Ferrand, M. et al. Interaction of highly purified thyroid peroxidase with anti-microsomal antibodies in autoimmune thyroid diseases. J. Endocrinol. Invest. 1986; 9:135 - 138.
4. Ruf, J., Czarnocka, B., Ferrand, M. et al. Thyroid peroxidase is the organ-specific 'microsomal' antigen involved in thyroid autoimmunity. Acta Endocrinol. (Copenhagen) 1987; Suppl. 281: 49–55
5. Ruf, J., Czarnocka, B., Ferrand, M. et al. Relationship between immunological structure andbiochemical properties of human thyroid peroxidase. Endocrinology 1988; Vol. 125 (3): 1211 - 1218.
6. Horster, F. A. Die Bedeutung von MAK, TAK, TRAK und Thyreoglobulin bei der Diagnose von Schilddrüsenkrankheiten. Internist 1988; 29: 538 – 540
7. Schatz, H., Löbig, H. Diagnostische und prognostische Bedeutung von Antikörpern gegen Schilddrüsenmikrosomen und Thyreoglobulin. Akt. Endokr. Stoffw. 1989; 10: 146 - 153.
8. Hashimoto, H. Zur Kenntnis der lymphomatösen Veränderung der Schilddrüse (Struma lymphomatosa). Arch. Klin. Chir. 1912; 97: 219 - 248.
9. Libert, F., Ruel, J., Ludgate, M. et al. Thyroperoxidase, an auto-antigen with a mosaic structure made of nuclear and mitochodrial gene modules. EMBO J. 1987; 6: 4193 - 4196.
10. McKenzie, J. M., Zakarija, M., Sato, A. Humoral immunity in Graves' disease. Clin. Endocrinol. Metab. 1978; 7: 31 - 45.
11. Scherbaum, W. A., Berg, P. A. Bedeutung von Autoantikörpern in der Diagnostik endokrinologischer Erkrankungen. Dtsch. Med. Wschr. 1981; 106: 308 - 313.
12. Scherbaum, W. A., Berg, P. A. Autoimmune Schilddrüsenerkrankungen - Neuere Aspekte zur Pathogenese und Diagnostik. Dtsch. Med. Wschr. 1984; 109: 1574 - 1581.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):

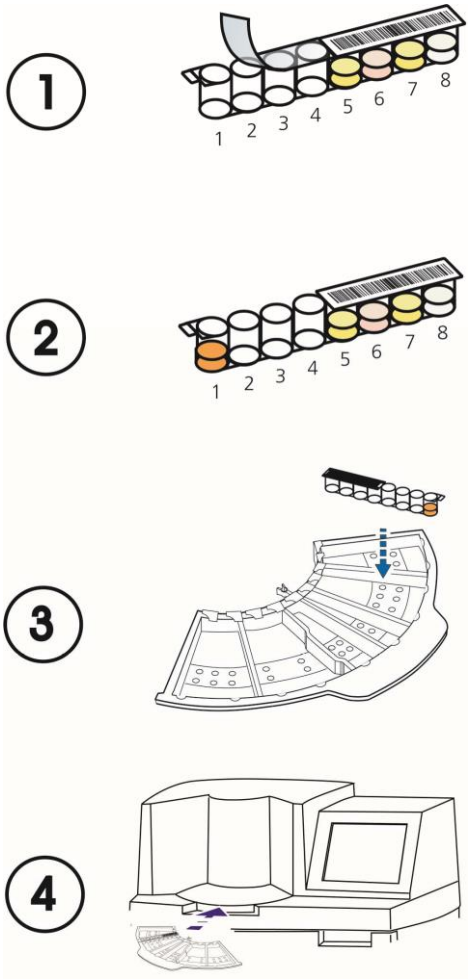
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями

Предыдущая версия: *ORG 203_IFU_EN_QM113044_2014-06-26_2*

Причина пересмотра: *введение электронной инструкции по применению на домашней странице*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

220_4

ORG 220 Anti-Insulin

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система Anti-Insulin предназначена для количественного определения антител к инсулину методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Антитела к инсулину обнаруживаются у значительной части пациентов с аутоиммунным диабетом (тип 1). Эти «истинные» антитела к эндогенному инсулину следует отличать от тех антител, которые есть у инсулинзависимых диабетиков при терапии инсулином животного происхождения.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
220_4	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU M	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Смесь препаратов бычьего, свиного и рекомбинантного человеческого инсулина высокой степени очистки связывается с микролунками.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые предназначены для одного контрольного образца и одного анализируемого образца пациента.

В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая, согласно международной классификации, относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

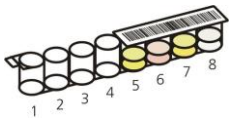
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Буфер для разведения образца– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **A-Insulin** на печатной этикетке: **Anti-Ins**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.
После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:
- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 10 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ
- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ
- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

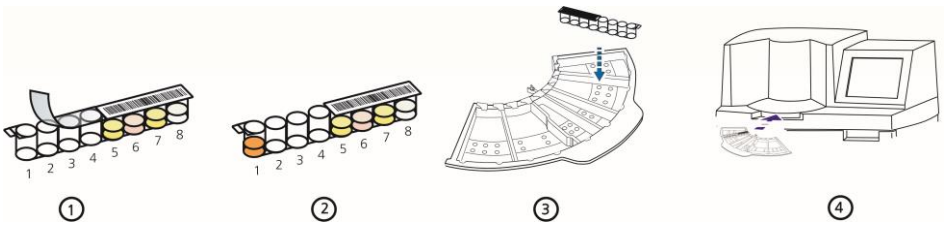
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 10 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений

Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0-100 ед./мл.

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами здоровых доноров крови с помощью анализа Alegria® были установлены следующие диапазоны: пороговое значение: 10 ед./мл.

Интерпретация результатов

Норма:	< 10 ед./мл
Повышенный результат:	≥ 10 ед./мл

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Данный количественный анализ является диагностическим средством. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного анализа. Клинический диагноз может быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных данных, характеризующих всю клиническую картину пациента. Решение о терапии для каждого пациента должно приниматься индивидуально.

Указанные выше аномальные и нормальные контрольные диапазоны антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендуемые. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными требованиями.

Линейность

Для определения динамического диапазона теста, три образца, взятые у пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, были последовательно разбавлены в буферном растворе для образцов. Активность для каждого разведения вычисляли при помощи технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		ед./мл	ед./мл	(%)
1	1:100	88,1	88,1	100
	1:200	45,3	44,1	103
	1:400	22,3	22,0	101
	1:800	10,9	11,0	99
2	1:100	77,6	77,6	100
	1:200	38,1	38,8	98

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:400	19,9	19,4	103
	1:800	9,5	9,7	98
3	1:100	55,4	55,4	100
	1:200	28,0	27,7	101
	1:400	14,2	13,9	103
	1:800	7,1	6,9	103

Чувствительность

Функциональная чувствительность составила: 0,5 ед/мл

Воспроизводимость

Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.

Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	16,3	1,5
2	30,2	3,7
3	58,8	1,5

Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, ед./мл	КВ, %
1	16,5	6,4
2	30,7	8,0
3	60,8	97

Субстанции, создающие помехи для анализа

Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

Исследуемая популяция	**n**	**n pos**	**%**
Сахарный диабет, тип 1	100	71	71,0
Нормальная человеческая сыворотка	160	2	1,3

		Клинический диагноз Пол.	Отр.	
ORG 220	Пол.	71	2	
Anti-Insulin	Отр.	29	158	
		100	160	260

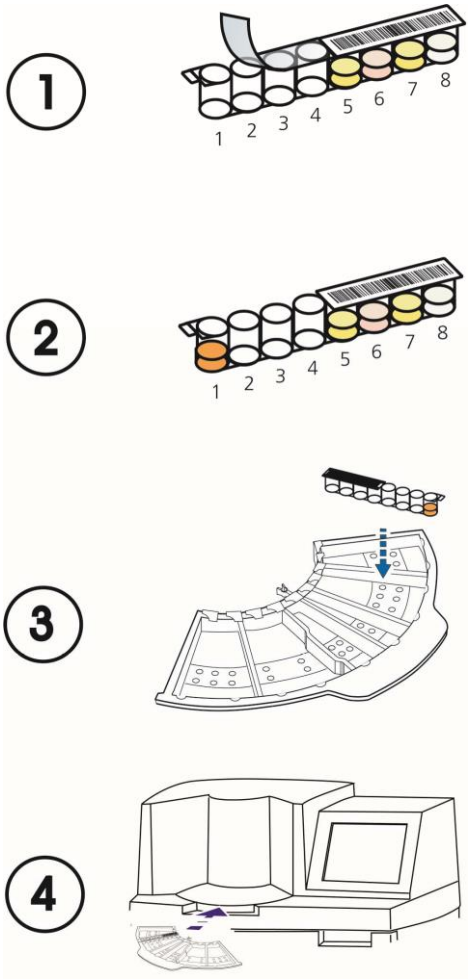
Чувствительность:	71.0 %
Специфичность:	98.8 %
Общая согласованность:	88.1 %

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Reeves, W. G. Insulin Antibody Determination: Theoretical and Practical Considerations. Diabetologia 24, 399 (1983).
2. Atkinson, M. A., Fisk, D. D., Spillar, R. P. and MacLaren, N. K. Insulin antibodies as markers for Insulin dependent diabetes mellitus (IDD).Diabetes 34, 926 - 930 (1985).
3. Willein, T., Nicholson, S. and Casey, C. A Micro Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Insulin Antibodies in Serum. J. Imm. Methods 76, 185 (1985).
4. Kobayashi, N. et al. A Solid-Phase Enzyme Immunoassay for Anti-Insulin Antibody in Diabetes Mellitus Patients. J. Imm. Methods 84, 245 (1985).
5. Wissllein, T. et al. Value of Insulin Antibodies as Serum marker for Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. Lancet 1,480 (1985).
6. Soeldner, J. S. et al. Insulin-Dependent Diabetes Mellitus and Autoimmunity: Islet-Cell Autoantibodies and betaCell Failure. New Engl. J. Med. 313, 893 (1985).
7. Torfs, C. P. et al. Long Term Frozen Sera for Epidemiological Studies of Antibodies. Lancet 1,503 (1986).
8. Seine, S. et al. Characterisation of Circulating Insulin in Insulin Autoimmune Syndrome. Clin. Endo. & Metab. 62, 64 (1986).
9. Boitard, C. H. and Me Dewitt, H. O. Immunology of insulin-dependent diabetes mellitus. In. Cohen, J. R., (ed.) Perspectives on autoimmunity, 39-58 (1987). CRC Press, Boca Raton, FL Neuve, J. A., Baker, Jr., J. R., Wartowsky, I. et al. Autoantibodies to insulin are present in sera of patients with autoimmune thyroid diseases. Diabetes, 37, 317-320 (1988).
10. Witkin, T. J. Insulin Autoantibodies as markers for type I diabetes. Endocrine Reviews, 11,92-104 (1990).

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

270_5

ORG 270 25-OH Vitamin D3/D2

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система 25-OH Vitamin D3/D2 для анализатора Alegria® предназначена для количественного определения общей концентрации 25-(Oh)-витамина D2 и 25-(Oh)-витамина D3 методом иммуноферментного анализа (ИФА) в образцах сыворотки или плазмы крови человека (ЭДТА, плазме, гепаринизированной плазме, цитратной плазме). Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
Концентрация 25-OH витамина D является показателем уровня запаса витамина D в организме. Концентрация 25-OH витамина D более 20 нг/мл считается показателем достаточного количества витамина D; значения 12-20 нг/мл указывают на недостаток витамина D; концентрация ниже 12 нг/мл указывает на серьезный дефицит витамина D. Уровень 25-OH витамина D коррелирует с клиническими симптомами дефицита витамина D.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
270_5	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для однократного анализа одного образца пациента. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов. В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Две лунки тест-полоски Alegria® покрыты антителом к 25-OH витамину D3/D2 и служат реакционными лунками для одного контрольного образца и одного образца пациента. Еще две лунки тест-полоски Alegria® покрываются трейсером витамина D 25-OH или контролем витамина D 25-OH соответственно.

В основе методики определения лежит конкурентный иммуноферментная анализ, который выполняется в несколько этапов: Образец переносится в лунку №1 с помощью пипетки. В анализаторе с произвольным доступом.Alegria® образец смешивается с реагентом-трейсером, и 25-OH витамин D3/D2 поступает из витамин D-связывающего белка. 25-OH витамин D и реагент-трейсер, нанесенные на лунку №2, суспендируются в буфере. Затем образец и контроль переносят в реакционные лунки №3 и №4, где 25-OH витамин D3/D2 и реагент-трейсер 25-OH витамина D конкурируют за связывание с нанесенным антителом к 25-OH витамину D3/D2. Образуются комплексы между 25-OH витамином D3/D2 и антителом или реагентом-трейсером 25-OH витамина D и антителом. После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «Трейсер-антитело». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синего цвета может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм. Интенсивность синего цвета обратно коррелирует с концентрацией витамина D в образце.

Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.

Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

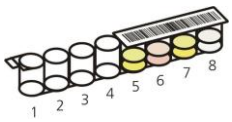
Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунка 1: зеленого цвета, с нанесенным трейсером 25-OH витамина D

Лунка 2: коричневого цвета, с нанесенным трейсером 25-OH витамина D + контролем 25-OH витамина D

Лунки 3+4: покрытые антителом (реакционные лунки)

Лунка 5: Буфер: желтого цвета

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgM человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин,
моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Матрица - прозрачная, матрица сыворотки крови человека, содержащая трисаминометановый буфер, бычий сывороточный альбумин, консервант
азид натрия 0,09%

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин..

Антитела, определяющие 25-OH витамин D2 и 25-OH витамин D3, связываются с реакционными лунками 3+4.

Код на штрихкоде: **VitD** на печатной этикетке: **VHD3/D2**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50x.

SYSTEM FLUID 1x 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 x.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

хранения и использования.

- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 12 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 C. После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Вихревая мешалка.
- Пипетка на 80 мкл.
- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.
- Дистиллированная или деионизированная вода

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ РЕАГЕНТЫ

ORG 271 Набор контрольных материалов для определения антител к 25-OH витамину D3/ D2

Набор контрольных материалов для определения антител к 25-OH витамину D3/ D2 - материалы для внешнего контроля качества для количественного анализа Alegria® для определения 25-OH витамина D3/D2. Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

Набор контрольных материалов содержит Контроль А и Контроль В по 2:5 мл каждый с определенной концентрацией 25-OH витамина D3/D2 (см. этикетку) в трисаминометановом буфере 0.7%, NaCI 0.8% с матрицей сыворотки крови человека, 0.7%, NaCI 0.8%, бычьим сывороточным альбумином 0.5% и азидом натрия 0,09% в качестве консервантов. Готов к применению. Достаточно для 30 определений. Хранить тест-комплект ORG 271 при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.

Невскрытые контроли стабильны до даты истечения срока годности (см. этикетку). После вскрытия продукт следует использовать в течение 4 месяцев.

Процедуры проведения анализа с анализатором Alegria®: Перенесите с помощью пипетки 80 мкл контроля на дно лунки 1 тест-полоски Alegria.

Данный набор контрольных материалов приобретается отдельно.

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

- Образцы цельной крови собирают, используя приемлемые медицинские методы, во избежание гемолиза.
- Кровь выдерживают до сворачивания, после чего отделяют сыворотку или плазму центрифугированием.
- Исследуемая сыворотка должна быть чистой и негемолизированной. Следует избегать контаминации гемолизом или липемией, однако это не мешает проведению анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C до пяти дней или при температуре -20 °C до шести месяцев.
- Не допускать повторного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы крови. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Не рекомендуется проводить исследование с использованием инактивированных нагреванием сывороток.

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

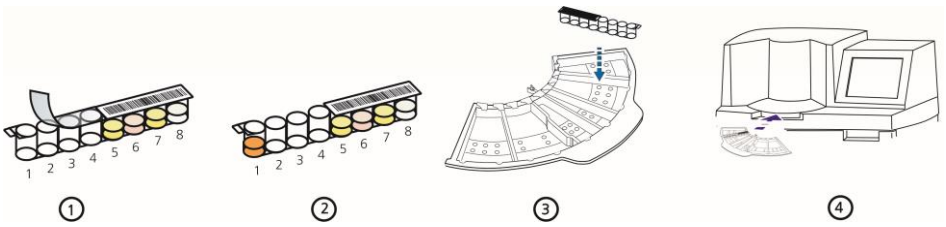
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите 80 мкл неразбавленного образца на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray

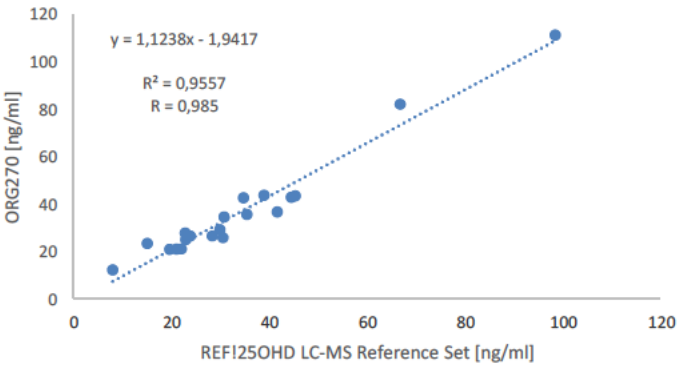
(4) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты

Внимание: Тест-полоски Alegria® 25-OH Vitamin D3/D2 требуют особого обращения, поэтому их нельзя использовать параллельно с другими тестами Alegria® в одной серии испытаний.



КАЛИБРОВКА

Калибровка прослеживается по эталонному препарату ID-LC/Tandem MS REFI25OHD (Labquality, IQAS).



ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений
Диапазон расчетов для количественного анализа Alegria® составляет 0- 200 нг/мл.

Интерпретация результатов
Предлагаемые диапазоны классификации статуса уровня витамина D согласно литературным данным (справочный документ 5):
(Коэффициент преобразования: 1 нг/мл - 2,5 нмоль/л; 1 нмоль/л = 0,4 нг/мл)

Дефицит	<12 нг/мл (< 30 нмоль/л)
Недостаток	12-20 нг/мл (30 - 50 нмоль/л)
Норм	>20- 150 нг/мл (> 50 - 375 нмоль/л)

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

В литературе предложено несколько референсных диапазонов. Примеры:
Справочный документ 5:
Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), (ÖGE), (SGE), (SVE), Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, Vitamin
D. 2012; ISBN 978-3-86528-128-9).
Дефицит: <12 нг/мл; Недостаток: 12-20 нг/мл; Норма: >20-160 нг/мл; Гипервитаминоз 160-500 нг/мл
Справочный документ 9:
Holick, M.F. Vitamin D deficiency. N. Engl. J.M. 2007, 357: 266-281.
Дефицит: <20 нг/мл; Недостаток: 21-29 нг/мл; Норма: >30 нг/мл; Интоксикация >150 нг/мл
Справочный документ 16:
National Osteoporosis Society 2013, Vitamin D and Bone Health: A Practical Clinical Guideline for Patient Management. Дефицит: <12 нг/мл; Недостаток: 12-20 нг/мл; Норма: >20 нг/мл
По литературным данным, такие факторы, как питание, время года, цвет кожи, возраст или культура, влияют на нормальный уровень 25-OH витамина D.
Диапазоны концентраций для классификации уровня витамина D следует рассматривать как рекомендацию.
Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189:2007 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетенции» или другими применимыми критериям.

Линейность
Для определения динамического диапазона теста, образцы, содержащие высокие уровни 25-OH витамина D, были последовательно разбавлены в буферном растворе. Концентрация 25-OH витамина D для каждого разведения рассчитывалась с помощью технологии SMC®.

Образец	Разведение	Полученное значение	Ожидаемое значение	Соотношение П/О
		[нг/мл]	[нг/мл]	%
1	1:1	170,2	200,0	85
	1:2	101,6	100.0	102
	1:4	44,6	50.0	89
	1:8	21,7	25.0	87
	1:16	12,9	12,5	104
2	1:1	129,2	120,0	107
	1:2	62,6	60,0	104
	1:4	25,1	30,0	84

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:8	15,3	15,0	102
3	1:1	58,5	62,6	94
	1:2	28,5	31,3	91
	1:4	14,7	15,6	94
	1:8	9,7	7,8	124
	1:16	4,1	3,9	105

Предел обнаружения
Наименьшее количество обнаруживаемого витамина D составляет 5 нг/мл.

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 24 определения за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице.
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех образцов по результатам 6 определений за 5 серий анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Образец	Среднее значение, нг/мл	КВ, %
1	16,3	10,7
2	50,1	6,1
3	107,5	3,9

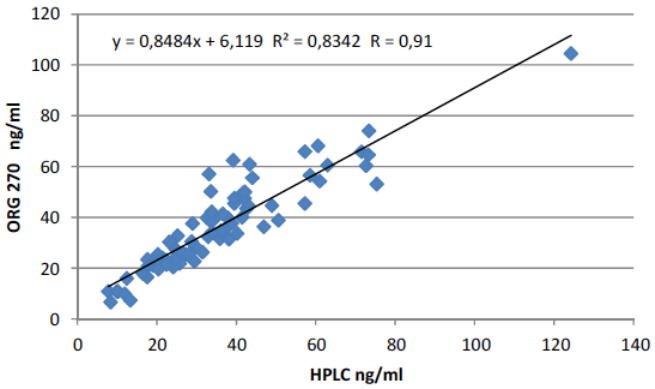
Межаналитическая точность		
Образец	Среднее значение, нг/мл	КВ, %
1	16,5	14,7
2	45,6	7,9
3	98,9	4,2

Субстанции, создающие помехи для анализа
Никаких помех не наблюдалось при использовании сыворотки или плазмы крови с гемолитическим (до 1000 мг/дл) или липемичным (до 3 г/дл триглицеридов) загрязнением и при использовании сыворотки или плазмы с билирубином (до 40 мг/дл). Также не отмечалось каких-либо мешающих эффектов при использовании антикоагулянтов (цитрата, ЭДТА, гепарина). Однако, по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Результаты исследования

В сравнительном исследовании были проанализированы 74 образца сыворотки крови с витамином D у лиц в возрасте от 8 до 89 лет, 2/3 женщин и 1/3 мужчин. Обнаружена высокая корреляция между Alegria® 25-OH Vitamin D3/D2 и методом ВЭЖХ:
R= 0,91



Специфичность
Специфичность определялась путем измерения перекрестной реактивности к веществам, связанным с 25-OH витамином D.
Перекрестная реактивность указана в % по отношению к реактивности 25-OH витамина D3:

25-OH витамин D3	100%
25-OH витамин D2	100,4%
Витамин D3 (Холекальциферол)	<0.1 %
Витамин D2 (Эргокальциферол)	<0.6 %

Чувствительность:	70.8%
Специфичность:	97.0%
Общая согласованность:	86,7%

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

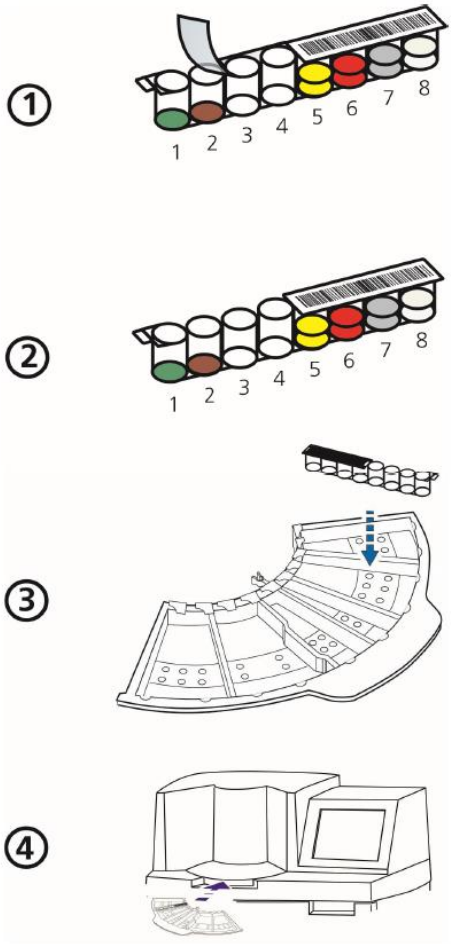
1. Ashraf, A. et al. Threshold for effects of vitamin D deficiency on glucose metabolism in obese female African-American adolescents. J Clin Endocrinol Metab 94 (9):3200-3206, 2009.
2. Baker, A. M. et al. A nested case-control study of midgestation vitamin D deficiency and risk of severe preeclampsia. J Clin Endocrinol Metab 95 (11):5105-5109, 2010.
3. Crew, K. D. et al. Association between plasma 25-hydroxyvitamin D and breast cancer risk. Cancer B rev Res (Phila) 2 (6):598-604, 2009.
4. Cutolo, M. Vitamin D and autoimmune rheumatic diseases. Rheumatology (Oxford), 48 (3): 210-212, 2009
5. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), (ÖGE), (SGE), (SVE), Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, Vitamin D. 2012; ISBN 978-3-86528-128-9.
6. Garland, C.F. et al. Vitamin D for Cancer Prevention: Global Perspective. Ann. Epidemiol. 2009; 19: 468-483.
7. Hayek J. El, G. Egeland, and H. Weiler. Vitamin D status of Inuit preschoolers reflects season and vitamin D intake. J Nutr 140 (10): 1839-1845, 2010.
8. Holick, M.F. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. J Clin Invest 116 (8):2062-2072, 2006.
9. Holick, M.F. Vitamin D deficiency. N. Engl. J.M. 2007, 357: 266-281.
10. Holick, M.F. Sunlight and Vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancer and cardiovascular disease. Am. J.Clin. Nutr. 2004; 80: 1678-1688.
11. Hollis B.W. Measuring 25-hydroxyvitamin D in a clinical environment: challenges and needs. Am. J. Clin. Nutr. 2008; 88: 507S-10S.
12. Houghton L.A. and Vieth R. The case against ergocalciferol (vitamin D2) as a vitamin supplement.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Am. J. Clin. Nutr. 2006; 84:694-697.
13. Jorde, R. et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels are strongly related to systolic blood pressure but do not predict future hypertension. Hypertension 55 (3):792-798, 2010.
14. Kamen, D. L. and Alele, J. D. Skeletal manifestations of systemic autoimmune diseases. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 17 (6):540-545, 2010.
15. Krasowski, M. D. Pathology consultation on vitamin D testing. Am J Clin Pathol 136 (4):507-514, 2011.
16. National Osteoporosis Society 2013, Vitamin D and Bone Health: A Practical Clinical Guideline for Patient Management.
17. Sen, D. and Ranganathan, P. Vitamin D in rheumatoid arthritis: panacea or placebo? Discov Med 14 (78):311-319, 2012.
18. Wen, H. and Baker, J. F. Vitamin D, immunoregulation, and rheumatoid arthritis. J Clin Rheumatol 17 (2): 102-107, 2011.
19. Zerwekh, J.E. Blood biomarkers of Vitamin D status, Am. J.Clin. Nutr. 2004; 87: 1087-91.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 270_IFU_EN_QM13071S_2016-01-21_4*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ANA Detect

96 тестов
Кат. Номер ORG 600

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор ANA Detect основан на непрямом твердофазном иммуноферментном методе (ELISA) и предназначен для качественного скрининга аутоантител класса IgG к ядерным антигенам: SSA-52 (Ro 52), SSA-60 (Ro 60), SSB (La), RNP/Sm, RNP-70 Kd, RNP-A, RNP-C, Sm-BB', Sm-D, Sm-E, Sm-F, Sm-G, Scl- 70, Jo-1, dsDNA, ssDNA, полинуклеосомам, мононуклеосомам, гистоновому комплексу, гистону H1, гистону H2A, гистону H2B, гистону H3, гистону H4, PM-Scl-100, центромере B. Метод может быть использован как дополнительный тест при диагностике систематических ревматических заболеваний.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Серологическая детекция антиядерных антител (ANA) у пациентов с предполагаемыми аутоиммунными нарушениями - общая практика в каждой иммунологической лаборатории.

Воспалительные заболевания соединительной ткани характеризуются идиопатическим генезом, нарушениями клеточного и гуморального иммунитета, системной недостаточностью органов и хроническим течением болезни. Кроме того, на клиническую картину соединительнотканного заболевания накладываются индивидуальные симптомы, что усложняет постановку правильного диагноза.

Системную красную волчанку (СКВ), синдром Шегрена, прогрессирующую системную склеродермию наряду с CREST-синдромом, синдромом Шарпа (другое название - смешанное заболевание соединительной ткани) и миозитом относят к воспалительным ревматическим заболеваниям.

При рассмотрении разнообразия смешанных заболеваний соединительной ткани такие нарушения характеризуются общими серологическими признаками: присутствием антинуклеарных антител (ANA). Эти антитела направлены против структур ядра и цитоплазмы клетки. Присутствие специфических ANA в сыворотке пациентов коррелирует с тем или иным заболеванием из выше перечисленных.

При подозрении на аутоиммунные нарушения первым диагностическим тестом является скрининговый анализ на антинуклеарные антитела. Общепринята непрямая иммунофлюоресценция с использованием клеточной линии HEp-2. Второй этап ANA-алгоритма - определение специфичности обнаруженных антител (например, с ANA-combi, ORG 539). Между ними может быть выполнен дополнительный скрининговый анализ.

Лунки планшета набора ORGENTEC ANA Detect ELISA покрыты смесью большого числа высоко очищенных антинуклеарных аутоантигенов, позволяющей проводить скрининг наиболее важных антинуклеарных антител: SSA-52 (Ro 52), SSA-60 (Ro 60), SSB (La), RNP/Sm, RNP-70 Kd, RNP-A, RNP-C, Sm-BB', Sm-D, Sm-E, Sm-F, Sm-G, Scl- 70, Jo-1, dsDNA, ssDNA, полинуклеосомы, моно-нуклеосомы, гистоновый комплекс, гистон H1, гистон H2A, гистон H2B, гистон H3, гистон H4, PM-Scl-100, центромера B. Таким образом, набор ORGENTEC ANA Detect ELISA позволяет проводить чувствительный скрининг на один или большее количество аутоантител, возможно, присутствующих в сыворотке пациентов.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Настоящий набор использует принцип непрямого твердофазного ИФА - ELISA. Он разработан для качественного скрининга аутоантител класса IgG к ядерным антигенам: SSA-52 (Ro 52), SSA-60 (Ro 60), SSB (La), RNP/Sm, RNP-70 Kd, RNP-A, RNP-C, Sm-BB', Sm-D, Sm-E, Sm-F, Sm-G, Scl- 70, Jo-1, dsDNA, ssDNA, полинуклеосомам, мононуклеосомам, гистоновому комплексу, гистону H1, гистону H2A, гистону H2B, гистону H3, гистону H4, PM-Scl-100, центромере B. Планшет может быть разделен на 12 стрипов по 8 ячеек каждый или может быть использован сразу для 96 определений.

В ходе анализа происходят: связывание присутствующих аутоантител, образование сэндвичевого комплекса и ферментная цветная реакция в следующих фазах реакции:

Фаза 1:

Контроли и предварительно разбавленные пробы пациентов добавляются в микроячейки. Любые присутствующие антитела связываются с иммобилизованными антигенами. После 30-минутной инкубации ячейки промываются, а промывочный раствор удаляет несвязавшиеся компоненты сыворотки.

Фаза 2:

Раствор коньюгата анти-человечьего-IgG-пероксидаза хрена добавляется в ячейки для определения аутоантител, связанных с иммобилизованными антигенами. После 15-минутной инкубации избыточный ферментный коньюгат удаляется промывочным раствором.

Фаза 3:

Хромогенный раствор субстрата, содержащий ТМБ, добавляется в ячейки. В течение 15-минутной инкубации цвет раствора становится голубым. Развитие окраски останавливается добавлением 1 М соляной кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый.

Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG в образце.

Необходимо считать оптическую плотность при 450 нм. Рекомендуется бихроматический режим с фильтром сравнения 600 - 690 нм.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие гепатита B и ВИЧ. Однако ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

образцами крови следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, Контроли, буфер для образцов и промывочный буфер) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN_3) в чистом виде очень токсичное и химически активное вещество. В тех концентрациях, в которых оно содержится в реагентах набора, оно не представляет опасности. Несмотря на классификацию как неопасного вещества, производитель настоятельно рекомендует соблюдайте принятые правила работы в лаборатории (см. 8., 9., 10.)
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, промывайте водопроводную систему большими количествами воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
8. При обращении с образцами или компонентами набора используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9. Не отбирайте образцы ртом.
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить.
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

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.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых смесью высокоочищенных антигенов: SSA-52 (Ro 52), SSA-60 (Ro 60), SSB (La), RNP/Sm, RNP-70 Kd, RNP-A, RNP-C, Sm-BB', Sm-D, Sm-E, Sm-F, Sm-G, Scl- 70, Jo-1, dsDNA, ssDNA, полинуклеосомы, мононуклеосомы, гистоновый комплекс, гистон H1, гистон H2A, гистон H2B, гистон H3, гистон H4, PM-Scl-100, центромера B. Готов к использованию.	1
Буфер образцов (Tris, NaN_3<0,1% масс), желтый, ***концентрат (5x)***. Готов к использованию.	1 флакон 20 мл
Буферный промывочный раствор (PBS, NaN_3 <0,1% масс), ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, Procline 300 <0,5% об) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG-IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Контроли анти-нуклеарных антител в PBS буфере/сыворотке (PBS, BSA, NaN3 <0,1% масс): отрицательный конт-роль (A), контроль-калибратор (B), положительный контроль (C). Готовы к использованию.	3 флакона 1,5 мл каждый

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ
1. Хранить набор при 2-8 °C.
2. Хранить микропланшет в тщательно закрытом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не нагревайте реагенты набора, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования набора.
5. Разведенные буфер для образцов и буфер для промывок стабильны не менее 30 дней при температуре 2-8 °C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ
Оборудование
- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или многократный дозатор на 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для расчета результатов

Приготовление реагентов
- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ
1.Соберите образцы цельной крови, с использованием обычных техник, избегая гемолиза.
2.Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3.Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Гемолиза или липемии лучше избегать, но они не оказывают существенного влияния на анализ.
4.Образцы могут храниться при охлаждении до 2 – 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.
5.Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания образцов сыворотки. Это может привести к потере активности аутоантител.
6.Тестирование инактивированных нагреванием образцов не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ
1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2.Не смешивайте и не заменяйте компоненты из разных лотов.
3. Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28 °C).
4. Приготовьте все реагенты до начала проведения анализа. После начала тестирования его надо проводить без остановок, для получения наиболее верных и постоянных результатов.
5.Выполняйте все этапы тестирования в том порядке, как это описано в данной инструкции.
6. Всегда используйте свежие разведения образцов.
7. При внесении всех реагентов и образцов пипетируйте прямо на дно ячеек.
8. Для предотвращения загрязнения образцов меняйте наконечники перед внесением каждого следующего образца или контроля, используйте одноразовые наконечники.
9.Для получения лучших результатов очень важно тщательно промывать ячейки, и полностью удалять оставшиеся в ячейках капли буфера для промывок.
10. Строго соблюдайте время инкубаций.
11. Контроли следует анализировать как неизвестные образцы для проверки работы реагентов и набора.
12.Не используйте лунки повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации можно построить калибровочную кривую и провести полуколичественную оценку образцов сывороток пациентов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое каждого флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием. Готовый буфер для образцов хранится охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до истечения срока годности.

Приготовление буфера для промывок

Разбавьте содержимое каждого флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до истечения срока годности.

Приготовление образцов

Разведите все пробы пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте. Калибраторы и контроли готовы к использованию и не требуют разведения.

ПРОТОКО�L АНАЛИЗА

1.Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и разбавленных проб пациентов.
2.Добавьте **100 µl** контролей и разбавленных проб пациентов в каждую ячейку.

	1	2	3	4	5	6	
A	CC	P2					P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; CC – контроль cut-off (калибратор); NC – негативный контроль, PC-положительный контроль
B	CC	P2					
C	NC	P…					
D	NC	P…					
E	PC						
F	PC						
G	P1						
H	P1						

3.Инкубируйте **30 минут** при комн. Т (20 - 28 °C).
4.Удалите содержимое ячеек и промойте **3 раза 300 µл** промывочного раствора.
5.Добавьте **100 µл** ферментного коньюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7.Удалите содержимое ячеек и промойте **3 раза 300 µл** промывочным раствором.
8.Добавьте **100 µl** раствора субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9.Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре, защищая от света.
10.Добавьте **100 µл** стоп-раствора в каждую ячейку и оставьте стоять в течение 5 минут.
11.Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты. Бихроматическое измерение проводите при 600-650 нм.

Развившаяся окраска стабильна 30 минут. Проводите измерение оптической плотности в течение этого времени.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного, cut-off и положительного контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

КАЛИБРОВКА

Тест-система прокалибрована по международно признанному стандарту сыворотки: CDC, Атланта, США, и по референс-стандарту ВОЗ для человеческих анти-dsDNA Wo/80.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полуколичественная оценка результатов теста:
может быть выражена в виде «индекса значения» (IV), который рассчитывается делением оптической плотности образца каждого пациента на оптическую плотность контроля Cut-Off (калибратора).

«индекс значения» = ОП образца / $ОП_{Cut\text{-}off}$

«индекс значения» ANA Detect ELISA
Отрицательный: < 1.0
Пограничный: 1.0 - 1.2

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Позитивный: ≥ 1.2

Рассчитанный «индекс значения» не зависит от вариаций оптической плотности образца и калибратора. Использование «индекса значения» рекомендуется для оценок во времени (внутреннего контроля качества образцов).

АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ РАСЧЕТ

Качественная оценка результатов теста:

Оценка результатов теста ANA Detect ELISA может быть легко выполнена прямым сравнением оптической плотности образца каждого пациента с оптической плотностью контроля Cut-Off (калибратора), если результат ОП образца пациента выше ОП контроля Cut-Off, образец считается положительным.

Отрицательный: ОП Пациента < ОП Cut-Off Контроля

Положительный: ОП Пациента ≥ ОП Cut-Off Контроля

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Образец No.	Экстинкция	Cut-Off Экстинкция	Индекс значения	Интерпретация
1	0.107	0.435	0.25	отрицательный
2	0.435	0.435	1.00	пограничный
3	1.294	0.435	2.97	положительный
4	2.496	0.435	5.74	положительный

Из-за дополнительных эффектов каждого из сорбированных антигенов сыворотка, имеющая положительный результат с использованием набора ANA Detect ELISA, может определяться отрицательной в наборе ANAcombi или в количественных наборах анти-ANA.

Дальнейшую дифференциацию и типирование следует проводить с использованием набора ANAcombi или количественных наборов ANA.

Ожидаемые значения

В общей популяции частота положительных результатов 5%, 40% - у здоровых пожилых лиц, и 25% родственников больных СКВ. ANA-положительны у пациентов с:

СКВ	95%
Синдром Шегрена	50-65%
Прогрессирующая системная склеродермия	40-60%
Ревматоидный артрит	12-24%
Ювенильный ревматоидный артрит	20%

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

В серии анализов сыворотки с высокой концентрацией антител были разведены буфером для образцов и проанализированы в ANA Detect ELISA.

Образец No.	Разведение	Коэффициент IV	Открытие, %
1	1:100	4,8	100%
	1:200	2,2	92%
	1:400	1,3	108%
2	1:100	2,8	100%
	1:200	1,5	107%
	1:400	0,8	114%
3	1:100	3,5	100%
	1:200	1,7	97%
	1:400	0,8	91%

Воспроизводимость

Статистика для коэффициентов вариации (CV) была рассчитана для каждого из четырёх образцов в 24 определениях в одной постановке для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 3 различных серий анализов по 24 определения каждого образца:

Внутри серии		
Образец, No	Значение x (Е/мл)	CV, (%)
1	1,8	6,9
2	2,4	10,4
3	2,8	10,4
4	3,1	7,4
Между сериями		
Образец No	Значение x (Е/мл)	CV, (%)
1	1,6	13,7
2	3,7	10,4
3	4,1	11,2
4	-	-

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Микропланшет покрыт смесью антигенов: SSA-52 (Ro 52), SSA-60 (Ro 60), SSB (La), RNP/Sm, RNP-70 Kd, RNP-A, RNP-C, Sm-BB', Sm-D, Sm-E, Sm-F, Sm-G, Scl-70, Jo-1, dsDNA, ssDNA, полинуклеосомы, мононуклеосомы, гистоновый комплекс, гистон H1, гистон H2A, гистон H2B, гистон H3, гистон H4, PM-Scl-100, центромера B, очищенных методом аффинной хроматографии. Тест ANA Detect специфичен только для аутоантител к этим антигенам. Перекрестных реакций не наблюдалось.

Ограничения метода

1. Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.
2. Из-за дополнительных эффектов каждого из восьми антигенов сыворотка, имеющая положительный результат с использованием набора ANA screen, может определяться отрицательной в подтверждающих тестах.
3. Положительный результат может быть у здоровых лиц.
4. Больные СКВ, получающие стероидную терапию, могут иметь отрицательный результат анализа.
5. В целом, ряд применяемых лекарственных средств может индуцировать ANA.

Интерференции

Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

Литература

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. Alexander E, Buyon J.P., Provost T.T., Guarnieri T. Anti-Ro/SS-A antibodies in the pathophysiology of congenital heart block in neonatal lupus syndrome, an experimental model. Arthritis and Rheumatism, Vol. 35, No. 2; 176-189; 1992.

2. Amoura Z., Koutouzov S., Chabre H., Cacoub P., Amoura I., Musset L., Bach J-F, Piette J-C. Presence of antinucleosome autoantibodies in a restricted set of connective tissue diseases. Arthritis and Rheumatism, Vol. 43 (1), 76-84, 2000.

3. Barland, P., Lipstein, E.. Selection and use of laboratory tests in the rheumatic diseases. Am. J. Med. Vol. 100 (suppl 2A), 16s-23s

4. Feltkamp, T.E.W.. Antinuclear antibody determination in a routine laboratory. Ann. Rheum. Dis. Vol. 55, 723-727, 1996

5. Fritzler, M.J.. Clinical relevance of autoantibodies in systemic rheumatic diseases. Mol.Biol.Rep. Vol. 23, 133-145, 1996

6. Hiepe, F., Burmester, G.R.. Klinik und Diagnostik des systematischen Lupus erythematodes. Dtsch. med. Wschr. Vol.121, 1129-1133, 1996

7. Hietarinta M, Lassila, O.. Clinical significance of antinuclear antibodies in systemic rheumatic disease. Ann. Med. Vol. 28, 283-291, 1996

8. Isenberg D.A., Ravirajan C.T., Rahman A., Kalsi J. The role of antibodies to DNA in systemic lupus erythematosus- A review and introduction to an international workshop on DNA antibodies held in London, May 1996. Lupus, 6; 290-304, 1997.

9. Nakamura, R.M., Tan, E.M. Update on autoantibodies to intracellular antigens in systemic rheumatic diseases. Clin. Lab. Med. Vol. 12, 1-23, 1992

10. Lundberg U.N., Hedfors E., Pettersson I. Recombinant 70-kD protein for determination of autoantigenic epitopes recognized by anti-RNP sera. Clin. exp. Immunol., 81; 52-58; 1990.

11. Sanchez-Guerrero, J., Lew, R.A., Fossel, A.H. Schur, P.H. Utility of anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro/SS-A, and anti-La /SS-B (extractable nuclear antigens) detected by enzyme linked immunosorbent assay for the diagnosis of systemic lupus erythematodes. Arth. Rheum. Vol. 39, 1055-1061, 1996.

12. Shen G.Q., Shoenfeld Y., Peter J.B. Anti-DNA, anti-histone, and anti-nucleosome antibodies in systemic Lupus erythematosus and drug-induced Lupus. Clin. Reviews in Allergy and Immunology; Vol. 16, 321-334, 1998.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

ANA Detect ELISA

Добавить **100 µл** контролей в микроячейки	**100 µл** проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Оставить на **5 минут**

Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ANAscreen

96 тестов
Кат. Номер ORG 538

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANA SCREEN предназначен для качественного скрининга обнаружения антинуклеарных антител (ANA) в человеческой сыворотке или плазме с целью диагностики определенных системных ревматических заболеваний. Этот метод детектирует суммарные антинуклеарные антитела к следующим антигенам SS-A/Ro, SS-B/La, RNP70, Sm, RNP/Sm, Scl-70 центромере B и Jo-1.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Воспалительные заболевания соединительной ткани характеризуются идиопатическим генезом, нарушениями клеточного и гуморального иммунитета, системной недостаточностью органов и хроническим течением болезни. Кроме того, на клиническую картину соединительнотканного заболевания накладываются индивидуальные симптомы, что усложняет постановку правильного диагноза [1].

Несмотря на разнообразие проявлений, смешанные заболевания соединительной ткани имеют общий серологический признак – наличие антинуклеарных антител [2]. Эти антитела направлены против различных структур ядра и цитоплазмы, и многие ревматические заболевания характеризуются наличием одного или более антинуклеарных антител (ANA).

Антитела к двуспиральной ДНК (dsDNA), односпиральной ДНК (ssDNA), гистонам, ядерному нуклеопротеину (RNP) и Смит-антигену (Sm) ассоциируются с системной красной волчанкой (СКВ) [4], тогда как антитела к антигену А синдрома Шегрена (SSA/Ro) и антитела к антигену В синдрома Шегрена (SSB/La) могут присутствовать и при СКВ и при синдроме Шегрена (SS) [5,6]. Антитела к Jo-1 наблюдаются при полимиозите и дерматомиозите [6], антитела к склеродерма-ассоциированному антигену (Scl-70) и центромере могут встречаться у пациентов с прогрессирующим системным склерозом (PSS). Антигистоновые антитела ассоциированы с СКВ и лекарственной волчанкой [7]. Анти-RNP антитела связаны со смешанным заболеванием соединительной ткани (MCTD) и с СКВ [2]. Антицентромерные антитела ассоциируются с CREST-синдромом [3].

Традиционно используется непрямая иммунофлюоресценция с использованием клеточной линии HEp-2, и на сегодняшний день хорошо известен альтернативный иммуноферментный анализ. Недостаток иммунофлюоресценции – субъективность интерпретации и трудоемкость при большом количестве образцов [8].

Таким образом ANAscreen набор позволяет проводить чувствительный скрининг одновременно одного или большего количества аутоантител в одной ячейке планшета и избегать необходимости интерпретации, свойственной иммунофлюоресцентной технике.

ПРИНЦИП МЕТОДА

В лунках планшета сорбированы очищенные антигены SS-A (Ro), SS-B (La), RNP-70, Sm, RNP/Sm, Scl-70, Centromer-B и Jo-1. В ходе анализа происходят: связывание присутствующих аутоантител. Промывочный раствор удаляет несвязавшиеся компоненты сыворотки. Раствор коньюгата анти-IgG человека-пероксидаза хрена связывается с аутоантителами пациента с формированием иммунного комплекса конъюгат-антитела. Несвязавшийся ферментный коньюгат удаляется промывочным раствором. Хромогенный раствор субстрата, содержащий ТМБ, в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислого стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG в образце и измеряется при 450 нм.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, помещенный в пакет из фольги с осушителем. Готов для использования.	1
Контроли анти-АЯА антител в сывороточно/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, NaN_3<0,1%(w/w)): отрицательный контроль (NC), контроль-калибратор (CC). Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris буфер, NaN_3<0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат*** 5x	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, Проклин 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-IgG человека антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (фосфатно-солевой буфер, NaN_3<0,1%(w/w), ***концентрат***, 50x	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Соберите образец цельной крови стандартной венопункцией, избегая гемолиза.

1 Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием
2 Избегайте гемолиза, липемии или микробиологического загрязнения сыворотки
3 Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.
4 Для предотвращения повторных циклов замораживания-оттаивания (это может привести к потере активности антител) следует приготовить аликвоты образцов.
5 Все пробы сыворотки и плазмы должны быть разбавлены 1:100 буфером для образцов. Следовательно, 10 мкл образца могут быть разбавлены 1000 мкл буфера.
6 Использование для анализа инактивированной нагреванием сыворотки не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28^{o}C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6
a	CC	P..				P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; CC –контроль-калибратор; NC – негативный контроль
b	CC	P..				
c	NC					
d	NC					
e	P1					
f	P1					
g	P2					
h	P2					

3. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре (18-28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного контроля и контроля-калибратора согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов

Качественная оценка

Оценка результатов теста ANA screen может быть проведена прямым сравнением оптической плотности образца каждого пациента с оптической плотностью контроля Cut-Off (калибратора), умноженного на тест-специфичный фактор 0,5.

$$ОП_{Cut\text{-}off} = ОП\ калибратора \times 0,5$$

Полуколичественная оценка

Полуколичественная оценка результатов теста ANAscreen может быть выражена в виде «индекса значения», который рассчитывается делением оптической плотности образца каждого пациента на оптическую плотность контроля-калибратора.

$$«индекс\ значения» = ОП\ образца / ОП_{Cut\text{-}off}$$

Интерпретация результатов

	«индекс значения»
Отрицательный:	< 1.0
Позитивный:	1.0 - 1.2
Позитивный:	≥ 1.2

Пробы пациента с оптическими плотностями выше, чем оптическая плотность контроля Cut-Off рассматриваются как положительные.

Отрицательный: ОП Пациента < ОП Cut-Off Контроля

Положительный: ОП Пациента ≥ ОП Cut-Off Контроля

Рассчитанный «индекс значения» не зависит от вариаций оптической плотности образца и калибратора. Использование «индекса значения» рекомендуется для оценок во времени (внутреннего контроля качества образцов).

Из-за дополнительных эффектов каждого из восьми антигенов сыворотка, имеющая положительный результат с использованием набора ANA screen, может определяться отрицательной в подтверждающих тестах.

Дальнейшую дифференциацию и типирование положительных образцов следует проводить с использованием набора ANA combi или количественных наборов анти-ANA для индивидуальных антигенов.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Образец No.	Экстинкция	Cut-Off Экстинкция	Индекс значения	Интерпретация
1	0.107	0.535	0.20	отрицательный
2	0.535	0.535	1.00	пограничный
3	1.294	0.535	2.42	положительный
4	2.496	0.535	4.67	положительный

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Ожидаемые значения
В общей популяции частота положительных результатов 5%, 40% - у здоровых пожилых лиц, и 25% родственников больных СКВ. ANA-положительны у пациентов с:

СКВ	95%
Синдром Шегрена	50-65%
Прогрессирующая системная склеродермия	40-60%
Ревматоидный артрит	12-24%
Ювенильный ревматоидный артрит	20%

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Специфичность
Микропланшет покрыт смесью антигенов SS-A (Ro), SS-B (La), Sm, RNP-70 Kd, RNP/Sm, Scl-70, Centromer-B и Jo-1, очищенных методом аффинной хроматографии. Тест ANA screen специфичен только для аутоантител к этим антигенам. Перекрестных реакций не наблюдалось.

КАЛИБРОВКА
Тест-система прокалибрована по международно признанному стандарту сыворотки: CDC, Атланта, США, и по Международному Стандарту для человеческих антител к двуспиральной ДНК Wo/80.

Ограничения метода
1. Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.
2. Из-за дополнительных эффектов каждого из восьми антигенов сыворотка, имеющая положительный результат с использованием набора ANA screen, может определяться отрицательной в подтверждающих тестах.
3. Положительный результат может быть у здоровых лиц.
4. Больные СКВ, получающие стероидную терапию, могут иметь отрицательный результат анализа.
5. В целом, ряд применяемых лекарственных средств может индуцировать ANA.

Интерференции
Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

Литература
См. английский вариант инструкции

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

ANA screen

Добавить **100 µл** контролей в микроячейки	**100 µл** проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Оставить на **5 минут**
Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ENAscreen

96 тестов
Кат. Номер ORG 506

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ
Набор ORGENTEC ENA-SCREEN предназначен для количественного определения аутоантител класса IgG к экстрагируемым ядерным антигенам SS-A (Ro), SS-B (La), Sm, RNP/Sm, Scl-70 и Jo-1.. Этот метод предназначен только для диагностики *in vitro* Системной красной волчанки, синдрома Шегрена, склеродермы.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
Ревматоидные аутоиммунные заболевания часто связаны с присутствием аутоантител к различным ядерным или цитоплазматическим антигенам. Эти так называемые антиядерные антитела можно разделить на три группы:

1. **истинные антиядерные антитела (ANA):**
   dsДНК, ssДНК, гистоны, ядерные РНК и ДНК
2. **экстрагируемые ядерные антигены:**
   Sm (Smith), n-RNP, Scl 70 и PM-1
3. **цитоплазматические антигены:**
   SS-A (Ro)*, SS-B (La)* и Jo-1

* SS-A (Ro) и SS-B (La) локализованы в цитоплазме и ядрах

У пациентов с синдромом Шегрена антитела к SS-A и SS-B часто встречаются в комбинации. Из-за сильной связи SS-A и SS-B антител к HLA-DR3 и DR2 фенотипам предполагается генетическая предрасположенность. Анти-SS-A-белок проходит через плаценту и может вызывать развитие неонатальной волчанки у новорожденных.

Иммунореактивные белки могут встречаться в различных комбинациях и связываться также с белками вирусного происхождения. Они индуцируют синтез поликлональных антител классов IgG, IgM и IgA. Была отмечена связь между смешанным заболеванием соединительной ткани и вирусной инфекцией вирусом Эпштейна-Барр.

Каждый класс иммуноглобулинов вызывает специфический иммунофлуоресцентный ответ. Титры иммунофлуоресценции в целом коррелируют с количеством IgG-антител, но концентрации могут значительно варьировать в пределах одного титра. Количество антител класса IgG сильно коррелирует с активностью болезни. Общепринята непрямая иммунофлуоресценция с использованием клеточной линии HEp-2. Тест иммунофлуоресценции с Crithidia lucilliae иногда приводит к отклонению значений.

На сегодняшний день наиболее изученными иммунореактивными антигенами являются двухспиральная ДНК (dsДНК), односпиральная ДНК (ssДНК), Sm (Smith), sn-RNP (малые частицы ядерных рибонуклеопротеинов), комплекс RNP/Sm, который стабилизируется рибонуклеиновой кислотой, а также SS-A (Ro) и SS-B (La). Антиген Scl 70, белок с молекулярным весом 70 kD, ассоциируется со склеродермой.

При ревматоидных аутоиммунных заболеваниях могут детектироваться различные профили аутоантител к этим антигенам. С высокой вероятностью они могут быть связаны с активной или неактивной системной эритемой, смешанным заболеванием соединительной ткани (СЗСТ) (синдромом Шарпа), ревматоидными артритами (РА), синдромом Шегрена, склеродермой, фоточувствительными дерматитами (ФД) и лекарственной волчанкой (ЛВ).

У пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) обычно могут быть детектированы анти-dsДНК. У пациентов без этих антител очень часто обнаруживают анти-ssДНК-, анти-SS-A- и анти-SS-B-антитела. Наблюдалась сильная корреляция между концентрацией антител и тяжестью заболевания с повышением концентрации антител в активную стадию. Количественной определение антител может быть более информативно, чем простое титрование в тесте иммунофлуоресценции.

Измерение анти-ssДНК обеспечивает дополнительную информацию о специфичности и активности антител. За исключением хронических воспалительных процессов анти-ssDNA-антитела не обнаруживаются у здоровых лиц.

Антитела определённого типа не специфичны только к одному заболеванию, но могут встречаться в различных комбинациях. Особенности нахождения различных комбинаций антител и их концентрации вместе с общей клинической картиной пациента - важный диагностический инструмент в оценке ревматоидных аутоиммунных заболеваний.

Следующая таблица дает краткую информацию о спектре аутоиммунных заболеваний, при которых встречаются те или иные комбинации антител. Она не предназначена для использования в качестве алгоритма исследования.

Частота, % / Забо-левание	Тип антител, антитела к …								
	ds-ДНК	ss-ДНК	Гис-тон	SS-A (Ro)	SS-B (La)	Sm	RNP/ Sm	Scl 70	Jo-1
СКВ	> 90	> 90	30-50	10-30	30-50	10-30	10-30		
ЛВ*		30-50	50-90						
Син-дром Шарпа/ СЗСТ	10-30	10-30					> 90		
РА		30-50	30-50	10-30					
Син-дром Шегрена	10-30	10-30		> 90	> 90				
Склеро-дерма	10-30	10-30		10-30				> 90	
ФД, ДМ**	10-30	10-30							50-90

*ЛВ - лекарственная волчанка, **ДМ – дерматомиозит

Цитируется по: Thomas, L. Autoantikörper gegen Organe, Gewebe und Thrombozyten. Labor und Diagnose 1992; Die Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg, 4. Auflage: 980 - 990.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты экстрагируемыми ядерными антигенами SS-A (Ro), SS-B (La), Sm, RNP/Sm, Scl-70 и Jo-1. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 8,9,10)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых смесью высокоочищенных антигенов SS-A, SS-B, Sm, RNP/Sm, Scl- 70 и Jo-1. Готов к использованию.	1
Контроли анти-ENA антител в PBS буфере/сыворотке (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)): отрицательный контроль (A), cut-off контроль (B), положительный контроль (C). Готовы к использованию.	3 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN_3<0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат (5x)***.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, PROCLIN 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG-IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***.	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.

Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для определения антител к ENA данным методом могут быть использованы сыворотка или плазма.

Все образцы сыворотки или плазмы необходимо развести перед тестированием 1 : 100 буфером для разведения образцов. Т.е. 10 мкл образца могут быть разведены в 1000 мкл буфера для разведения образцов.

Образцы не обязательно брать натощак, и не требуется какой-либо специальной подготовки пациента перед

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

забором крови. Соберите кровь обычной венопункцией, в вакутейнеры, и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
Образцы могут храниться охлажденными при 2 - 8 °C не менее 5 дней. Для более длительного хранения, до 6 месяцев, образцы необходимо заморозить и хранить при -20 °C. Аликвотируйте образцы перед замораживанием, чтобы избежать повторных циклов замораживания/оттаивания.
Ни билирубин, ни гемоглобин не оказывают значительного влияния на результаты тестирования данным методом.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28°C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и предварительно разбавленных проб пациентов.

2. Добавьте в ячейки 100 мкл контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов в дублях.

	1	2	3	4	5	6
a	C1	P3				
b	C1	P4				
c	C2					
d	C2					
e	C3					
f	C3					
g	P1					
h	P2					

C1 – отрицательный контроль
C2 – cut-off контроль
C3 – положительный контроль
P – образецы пациентов

3. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре (20 - 28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.

5. Добавьте 100 мкл раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.

8. Добавьте 100 мкл субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

10 Добавьте 100 мкл стоп-раствора в каждую ячейку и позвольте постоять 5 минут.

11.Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

РЕЗУЛЬТАТОВ

Оценка результатов теста ENAscreen может быть проведена прямым сравнением оптической плотности (ОП) образца каждого пациента с оптической плотностью контроля Cut-Off.
Пробы пациента с оптическими плотностями выше, чем оптическая плотность контроля Cut-Off Control рассматриваются как положительные.

Отрицательный: ОП Пациента $<$ ОП Cut-Off Контроля

Положительный: ОП Пациента $\geq$ ОП Cut-Off Контроля

Полуколичественная оценка результатов теста ENAscreen может быть выражена в виде «индекса значения», который рассчитывается делением оптической плотности образца каждого пациента на оптическую плотность контроля Cut-Off (калибратора).

«индекс значения» = ОП образца / $ОП_{Cut\text{-}off}$
Рассчитанный «индекс значения» не зависит от вариаций оптической плотности образца и калибратора. Использование

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«индекса значения» рекомендуется для оценок во времени (внутреннего контроля качества образцов).

Из-за суммарных эффектов каждого из шести антигенов сыворотка, положительная в наборе ENAscreen может быть дать отрицательный результат в наборе ENAcombi или количественных наборах анти-ENA.

При положительном результате следует проводить дальнейшую дифференциацию и типирование антител с использованием набора ENAcombi или количественных наборов анти-ENA.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Образец No.	Экстинкция	Cut-Off Экстинкция	Индекс значения	Интерпретация
1	0.107	0.535	0.20	отрицательный
2	0.535	0.535	1.00	низкоположительный
3	1.294	0.535	2.42	положительный
4	2.496	0.535	4.67	положительный

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Воспроизводимость:

Статистика для коэффициентов корреляции (CV) была рассчитана для каждого из четырёх образцов в 21 определении в одной постановке для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных серий анализов по 5 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Значение x (МЕ/мл)	CV (%)
1	0.17	6.0
2	1.02	2.2
3	2.20	1.6
4	5.70	0.9
Между сериями		
Образец No	Значение x (МЕ/мл)	CV (%)
1	0.18	6.9
2	1.07	1.2
3	2.43	1.6
4	4.32	3.3

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Микропланшет покрыт смесью антигенов SS-A (Ro), SS-B (La), Sm, RNP/Sm, Scl-70 и Jo-1, очищенных методом аффинной хроматографии. Тест ENAscreen специфичен только для аутоантител к этим антигенам. Перекрестных реакций не наблюдалось.

КАЛИБРОВКА

Тест-система прокалибрована по международно признанному стандарту сыворотки: CDC, Атланта, США, так как других международных стандартов не существует.

Ограничения метода

Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Интерференции

Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Antinuclear Antibodies
The Lancet 1984; 15: 611 - 613.
2. Froelich, Ch. J., Wallmann, H., Skosey, J. L. and Teodorescu, M.
Clinical Value of an Integrated ELISA System for the Detection of 6 Autoantibodies (ssDNA, dsDNA, Sm, RNP/Sm, SSA and SSB).
The Journal of Rheumatology 1990; Vol 17, No 2: 192 - 200.
3. Harley, J. B. and Gaither, K. K.
Autoantibodies.
Rheumatic Disease Clinics of North America 1988; Vol 14, No 1: 43 - 56.
4. Slobbe, R.L. et al.
Detection and occurence of the 60- and 52-kD Ro (SS-A) antigens and of autoantibodies against these proteins.
Clin. Exp. Immunol. 1991; 86: 99 - 105.
5. Hartung, K. and Deicher, H.
Systemischer Lupus erythematodes.
Allergologie 1985; Jahrgang 8, Nr. 7: 275 - 281.
6. Hartung, K. and Deicher, H.
Symptome und Symptommuster beim systemischen Lupus erythematodes.
Die Internistische Welt 1987; 9: 236 - 241.
7. Takeda, J. et al.
Antigenic Domains on the U1 Small Nuclear Ribonucleoprotein-Associated 70K Polypeptide: A Comparison of Regions Selectively Recognized by Human and Mouse Autoantibodies and by Monoclonal Antibodies.
Clinical Immunology and Immunopathology 1991; 61: 55 - 68.
8. Reichlin, M. and Van Venrooij, W. J.
Autoantibodies to the URNP particles: relationship to clinical diagnosis and nephritis.Clin. exp. Immunol. 1991; 83: 286 - 290.
9. Hietarinta, M., Lassila, O. and Hietaharju, A.
Association of Anti-U1RNP- and Anti-Scl-70-antibodies with Neurological Manifestations in Systemic Sclerosis (Scleroderma).
Scand. J. Rheumatol. 1994; 23: 64 - 67.
10. Reveille, J.D. et al.
Racial Differences in the Frequencies of Scleroderma-related Autoantibodies.
Arthritis and Rheumatism 1992; Vol 35, No 2: 216 - 218.
11. Genth, E. and Mierau, R.
Jo-1-(Antisynthetase-)Syndrom - verbessern Autoantikörper die Klassifikation von Myositiden?
Zeitschrift für Rheumatologie 1993; 52: 259 - 263.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

ENAscreen

Добавить в микроячейки

100 µл контролей

100 µл проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Оставить на **5 минут**
Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ANAcombi

96 тестов
Кат. Номер ORG 539

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANACOMBI предназначен разработан для качественного определения антиядерных аутоантител класса IgG к RNP-70, RNP/Sm, Sm, SS-A, SS-B, Scl-70, центромере B и Jo-1. Набор предназначен только для диагностики in vitro и может использоваться для диагностики систематических ревматоидных заболеваний.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Серологическая детекция антиядерных антител (ANA) у пациентов с предполагаемыми аутоиммунными нарушениями - общая практика в каждой иммунологической лаборатории.

Воспалительные заболевания соединительной ткани характеризуются идиопатическим генезом, нарушениями клеточного и гуморального иммунитета, системной недостаточностью органов и хроническим течением болезни. Кроме того, на клиническую картину соединительнотканного заболевания накладываются индивидуальные симптомы, что усложняет постановку правильного диагноза.

Системную красную волчанку (СКВ), синдром Шегрена, прогрессирующую системную склеродермию наряду с CREST-синдромом, синдромом Шарпа (другое название - смешанное заболевание соединительной ткани) и миозитом относят к воспалительным ревматическим заболеваниям.

При рассмотрении различные нарушения характеризуются общими серологическими признаками: наличием антиядерных антител. Эти антитела направлены против структур цитоплазмы и ядра клетки. Присутствие специфических ANA в сыворотке пациентов коррелирует с тем или иным заболеванием из выше перечисленных.

При подозрении на аутоиммунные нарушения первым диагностическим тестом является скрининговый анализ на антинуклеарные антитела. Общепринята непрямая иммунофлюоресценция с использованием клеточной линии HEp-2. Второй этап ANA-алгоритма - определение специфичности обнаруженных антител (например, с ANA-combi, ORG 539). Между ними может быть выполнен дополнительный скрининговый анализ.

Лунки планшета набора ORGENTEC ANAcombi ELISA покрыты восемью аутоантигенами, позволяющими проводить определение наиболее важных антинуклеарных антител: анти-RNP-70 (также называемый анти-RNP-68), анти-Sm, анти-RNP-Sm (он же анти-U1-snRNP), анти-SS-A, анти-SS-B, анти-Scl-70, анти-центромер B и анти-Jo-1. Таким образом, набор ANAcombi позволяет проводить чувствительное определение 8 различных аутоантител, которые могут присутствовать в сыворотке пациентов.

ПРИНЦИП МЕТОДА

В лунках планшета сорбированы очищенные антигены SS-A (Ro), SS-B (La), RNP-70, Sm, RNP/Sm, Centromer-B и Jo-1. В ходе анализа происходят: связывание присутствующих аутоантител. Промывочный раствор удаляет несвязавшиеся компоненты сыворотки. Раствор коньюгата анти-IgG человека-пероксидаза хрена связывается с аутоантителами пациента с формированием иммунного комплекса конъюгат-антитела. Несвязавшийся ферментный коньюгат удаляется промывочным раствором. Хромогенный раствор субстрата, содержащий ТМБ, в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислого стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность окраски измеряется при 450 нм.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту B 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	96 тестов
разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенными антигенами RNP-70 (ряд A), RNP/Sm (ряд B), Sm (ряд C), SS-A (ряд D), SS-B (ряд E), Scl-70 (ряд F), центромера B (ряд G) и Jo-1 (ряд H), помещенный в пакет из фольги с осушителем. Готов для использования.	1
Контроли анти-АЯА антител в сывороточно/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, NaN_3<0,1%(w/w)): отрицательный контроль (NC), контроль-калибратор (CC). Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris буфер, NaN_3<0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат*** 5x	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, Проклин 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-IgG человека антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (фосфатно-солевой буфер, NaN_3<0,1%(w/w), ***концентрат***, 50x	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Соберите образец цельной крови стандартной венопункцией, избегая гемолиза.

1 Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием
2 Избегайте гемолиза, липемии или микробиологического загрязнения сыворотки
3 Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.
4 Для предотвращения повторных циклов замораживания-оттаивания (это может привести к потере активности антител) следует приготовить аликвоты образцов.
5 Все пробы сыворотки и плазмы должны быть разбавлены 1:100 буфером для образцов. Следовательно, 10 мкл образца могут быть разбавлены 1000 мкл буфера.
6 Использование для анализа инактивированной нагреванием сыворотки не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28^{o}C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	Колонка / Ряд	1	2	3	4	5	
RNP-70	**A**	CC	NC	P1	P2	P..	
RNP/Sm	**B**	CC	NC	P1	P2	P..	
Sm	**C**	CC	NC	P1	P2	P..	
SS-A	**D**	CC	NC	P1	P2	P..	CC-Калибратор,
SS-B	**E**	CC	NC	P1	P2	P..	
Scl-70	**F**	CC	NC	P1	P2	P..	NC-отрицательн. контроль,
Центромера B	**G**	CC	NC	P1	P2	P..	
Jo-1	**H**	CC	NC	P1	P2	P..	P1, P2 образцы пациентов

3. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре (18-28 °С).

4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Расчёт результатов по оптической плотности:

Оценка результатов теста ANAcombi проводится прямым сравнением отношения оптической плотности (ОП) образца каждого пациента с ОП cutt-off контроля конкретного антигена – расчётом индекса позитивности. Для каждого образца пациента значение индекса рассчитывается следующим образом:

$$\textbf{Индекс образца} = \frac{\textbf{ОП}_{\textbf{образца}}}{\textbf{ОП}_{\textbf{Контроля Cut-off}}}$$

Проба пациента положительна по одному параметру, если для этого параметра Индекс образца ≥ 1.2, отрицательна - если Индекс образца < 1.0.

Отрицательный:	Индекс образца	< 1,0
Пограничный:	Индекс образца	1,0 – 1,2
Положительный:	Индекс образца	≥ 1,2

Альтернативный расчёт:

Оценка результатов теста ANAcombi проводится сравнением отношения ОП образца каждого пациента с ОП cutt-off контроля - калибратора, причём сначала ОП калибратора каждого антигена корректируется по специфичному фактору (F) (специфичные факторы указаны в сертификате).

Для каждого из восьми антигенов значение ОП cutt-off рассчитывается по формуле:

ОП cutt-off кор. = ОП калибратора x F

Проба пациента положительна по одному параметру, если для этого параметра ОП образца ≥ ОП cutt-off кор., отрицательна - если ОП образца < ОП cutt-off кор.

Для детального количественного анализа рекомендуется использовать тесты фирмы «Orgentec» для определения отдельных антигенов.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе при определении ANA. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Образец №	Антиген	Ряд	ОП калибратора	Фактор F	$ОП_{Cut\text{-}off\ кор.}$	$ОП_{образца}$	Результат
1	RNP-70	A	0,48	1,10	0,53	0,083	отрицат
1	RNP/Sm	B	0,50	1,00	0,50	0,420	отрицат
1	Sm	C	0,40	1,25	0,50	0,138	отрицат
1	SS-A	D	0,42	0,85	0,36	0,133	отрицат
1	SS-B	E	0,53	0,75	0,39	0,505	положит
1	Scl-70	F	0,57	1,00	0,57	0,820	положит

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1	Центро-мера B	G	0,49	0,80	0,39	0,212	отрицат
1	Jo-1	H	0,50	0,80	0,40	0,189	отрицат

Ожидаемые значения

В общей популяции частота положительных результатов 5%, 40% - у здоровых пожилых лиц, и 25% родственников больных СКВ. ANA-положительны у пациентов с:

СКВ	95%
Синдром Шегрена	50-65%
Прогрессирующая системная склеродермия	40-60%
Ревматоидный артрит	12-24%
Ювенильный ревматоидный артрит	20%

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

A, SS-B, Scl-70, центромеры B и Jo-1, соответственно, очищенных методом аффинной хроматографии. Тест ANA combi специфичен только для аутоантител к этим антигенам. Перекрестных реакций не наблюдалось.

КАЛИБРОВКА

Тест-система прокалибрована по международно признанному стандарту сыворотки: CDC, Атланта, США, так как других международных стандартов не существует.

Ограничения метода

1. Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.
2. Из-за дополнительных эффектов каждого из восьми антигенов сыворотка, имеющая положительный результат с использованием набора ANAscreen, может определяться отрицательной в подтверждающих тестах.
3. Положительный результат может быть у здоровых лиц.
4. Больные СКВ, получающие стероидную терапию, могут иметь отрицательный результат анализа.
5. В целом, ряд применяемых лекарственных средств может индуцировать ANA.

Интерференции

Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

Литература

См. английский вариант инструкции

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

ANAcombi

Добавить **100 µл** контролей в микроячейки	**100 µл** проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Оставить на **5 минут**
Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

544_4

ORG 544 ENA-4-Profile

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

ENA-4-Profile представляет собой тест-систему ELISA для качественного определения аутоантител класса IgG, направленных против экстрагируемых ядерных антигенов SS-A (52 и 60 кДа, Ro), SS-B (La), Sm и RNP/Sm в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики.

Тест используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике воспалительных аутоиммунных заболеваний, например системной красной волчанки, смешанных заболеваний соединительной ткани, синдрома Шегрена или склеродермии. Оценка результатов теста всегда должна учитывать все клинические и лабораторные диагностические данные.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
544_4	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR	Калибратор
CALIBRATOR	Калибратор
CALIBRATOR	Калибратор
CALIBRATOR	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE	Ферментный конъюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывающий буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Экстрагируемые ядерные антигены SS-A (52 и 60 кДа), SS-B, Sm, RNP/Sm абсорбированы на поверхности микропланшетных лунок.

Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами: Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 544	▽ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Цветовой код на модуле
CALIBRATOR	1x 1 ml	Калибратор SS-A (cut-off), содержащий антитела SS-A в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR	1x 1 ml	Калибратор SS-B (cut-off), содержащий антитела SS-B в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR	1x 1 ml	Калибратор Sm (cut-off), содержащий антитела Sm в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR	1x 1 ml	Калибратор RNP/Sm (cut-off), содержащий антитела к RNP/Sm в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 2 ml	Контроль положительный, содержащий антитела к ENA в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL −	1x 2 ml	Контроль отрицательный, содержащий антитела к ENA в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
DILUENT	20 ml	Дилюент P, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий антитела IgG против человека, меченные HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	Субстрат TMB; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
		Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления.

Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.

- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.

Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C+	C+	C+	C+								
B	SS-A	SS-B	Sm	RNP								
C	C-	C-	C-	C-								
D	P1	P1	P1	P1								
E	P2	P2	P2	P2								
F	P3	P3	P3	P3								
G	P4	P4	P4	P4								
H	P5	P5	P5	P5								

Антигены, нанесенные на модули:
красный = SS-A
синий = SS-B
желтый = Sm
зеленый = RNP/Sm

кр. **синий** желт зелен

P1, ... проба пациента калибратор: **SS-A**, **SS-B**, Sm, **RNP/Sm** C+, C- контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.
Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения качественных результатов: для каждого антигена профиля оптическая плотность (OD) образца сравнивается с OD антигенспецифического калибратора

Негативный: OD образца < OD Калибратора
Позитивный: OD образца ≥ OD Калибратора

Для получения подробных результатов: оптическая плотность образца выражается в виде значения индекса
Индекс = OD образца / OD Калибратора

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

КАЛИБРОВКА

Система анализа откалибрована по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Диапазон измерения

Диапазон расчета: не применимо

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off Индекс 1.0

Интерпретация результатов

Негативный:	Index < 1.0
Граница:	Index 1.0 - 1.2
Позитивный:	Index > 1.2

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов. Активность для каждой стадии разведения рассчитывали как значение индекса.

Проба	Разведение	Наблюдаемый Индекс	Ожидаемый Индекс	H/O [%]
(SS-A)	1:100	4.9	4.9	100
.	1:200	2.5	2.4	103
.	1:400	1.3	1.2	105
.	1:800	0.6	0.6	98
(SS-B)	1:100	5.2	5.2	100
.	1:200	2.5	2.6	97
.	1:400	1.3	1.3	95
.	1:800	0.6	0.7	88
(Sm)	1:100	4.5	4.5	100
.	1:200	2.2	2.3	96
.	1:400	1.1	1.1	96
.	1:800	0.5	0.6	89
(RNP/Sm)	1:100	4.2	4.2	100
.	1:200	2.0	2.1	96
.	1:400	1.0	1.0	94
.	1:800	0.5	0.5	94

Предел обнаружения

не применимо n.a.

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.
Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ		
Проба	Значение Индекса	CV %
SS-A	1.5	4.3
SS-B	1.3	5.0
Sm	1.7	3.1
RNP/Sm	1.1	3.9

Анализ между сериями		
Проба	Значение Индекса	CV %
SS-A	1.4	3.6
SS-B	1.2	4.0
Sm	1.7	2.3
RNP/Sm	1.2	3.6

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n Поз*	%
СКВ	63	56	88.9
Синдром Шегрена	10	10	100.0
MCTD	10	10	100.0
Склеродермия	10	3	30.0
Ревматоидный артрит	60	2	3.3
Нормальные человеческие сыворотки	148	3	2.0

* положительный результат на один или несколько антигенов

		Клинический диагноз		
		Поз.	Нег.	
ORG 544	Поз.	79	5	
	Нег.	14	203	
		93	208	301

Чувствительность:	84.9	%
Специфичность:	97.6	%
Общая достоверность:	93.7	%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Приведенные выше патологические и нормальные референтные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Velte CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sci 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?--The routine use of anti-nuclear antibody screening ELISAs. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль

Прежняя версия: *ORG 544_IFU_DE_QM112969_2018-01-02_3* Причина пересмотра: Для лучшего понимания: "RNP" изменен на "RNP/Sm"

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

546_4

ORG 546 ENA-6-Profile

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

ENA-6-Profile представляет собой тест-систему ELISA для качественного измерения аутоантител класса IgG, направленных против экстрагируемых ядерных антигенов SS-A (52 и 60 кДа, Ro), SS-B (La), Sm, RNP/Sm, Scl-70 и Jo-1 в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики.
Тест используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике воспалительных аутоиммунных заболеваний, например системной красной волчанки, смешанных заболеваний соединительной ткани, синдрома Шегрена, склеродермии и полимиозита/дерматомиозита.
Оценка результатов теста всегда должна учитывать все клинические и лабораторные диагностические данные.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не используйте повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
546_4	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR	Калибратор
CALIBRATOR	Калибратор
CALIBRATOR	Калибратор
CALIBRATOR	Калибратор
CALIBRATOR	Калибратор
CALIBRATOR	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE	Ферментный конъюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Высокоочищенные антигены SS-A (52 и 60 кДа), SS-B, Sm, RNP/Sm, Scl-70 и Jo-1 абсорбированы на поверхности микропланшетных лунок.
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами: Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 546	▽96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоит из 12 стрипов по 8 лунок каждый. Готов к использованию. Цветовой код на модуле
CALIBRATOR		1x 1 ml Калибратор SS-A (cut-off), содержащий антитела SS-A в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR		1x 1 ml Калибратор SS-B (cut-off), содержащий антитела SS-B в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR		1x 1 ml Калибратор Sm (cut-off), содержащий антитела Sm в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR		1x 1 ml Калибратор RNP/Sm (cut-off), содержащий антитела к RNP/Sm в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, моющее средство, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR		1x 1 ml Калибратор Scl-70 (cut-off), содержащий антитела к Scl-70 в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR		1x 1 ml Калибратор Jo-1 (cut-off), содержащий антитела к Jo-1 в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +		1x 2 ml Контроль положительный, содержащий антитела к ENA в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL −		1x 2 ml Контроль отрицательный, содержащий антитела к ENA в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
DILUENT		20 ml Образец буфера P, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE		15 ml Ферментный конъюгат, содержащий антитела IgG против человека, меченный HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	Субстрат TMB; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
		Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм;

дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления. Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.
- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.
Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C+	C+	C+	C+	C+	C+						
B	SS-A	SS-B	Sm	RNP	Scl	Jo-1						
C	C-	C-	C-	C-	C-	C-						
D	P1	P1	P1	P1	P1	P1						
E	P2	P2	P2	P2	P2	P2						
F	P3	P3	P3	P3	P3	P3						
G	P4	P4	P4	P4	P4	P4						
H	P5	P5	P5	P5	P5	P5						

Антигены, нанесенные на модули:
красный = SS-A
синий = SS-B
желтый = Sm
зеленый = RNP/Sm
розовый = Scl-70
черный = Jo-1

кра **синий** желт злн **роз** черный

P1, ... проба пациента, специфичные калибраторы: **SS-A**, **SS-B**, Sm, **RNP/Sm**, **Scl-70**, **Jo-1** C+ C- контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.
Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения качественных результатов: для каждого антигена профиля оптическая плотность (OD) образца сравнивается с OD антигенспецифического калибратора

Негативный: OD образца < OD Калибратора
Позитивный: OD образца ≥ OD Калибратора

Для получения подробных результатов: оптическая плотность образца выражается в виде значения индекса

Индекс = OD образца / OD Калибратора

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

КАЛИБРОВКА

Система анализа откалибрована по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Диапазон измерения

Диапазон расчета: не применимо

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off Индекс 1.0

Интерпретация результатов

Негативный:	Index < 1.0
Граница:	Index 1.0 - 1.2
Позитивный:	Index > 1.2

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов. Активность для каждой стадии разведения рассчитывали как значение индекса.

Проба	Разведение	Наблюдаемый Индекс	Ожидаемый Индекс	H/O [%]
(SS-A)	1:100	4.9	4.9	100
	1:200	2.5	2.4	103
	1:400	1.3	1.2	105
	1:800	0.6	0.6	98
(SS-B)	1:100	5.2	5.2	100
	1:200	2.5	2.6	97
	1:400	1.3	1.3	95
	1:800	0.6	0.7	88
(Sm)	1:100	4.5	4.5	100
	1:200	2.2	2.3	96
	1:400	1.1	1.1	96
	1:800	0.5	0.6	89
(RNP/Sm)	1:100	4.2	4.2	100
	1:200	2.0	2.1	96
	1:400	1.0	1.0	94
	1:800	0.5	0.5	94
(Scl-70)	1:100	4.0	4.0	100
	1:200	1.9	2.0	93
	1:400	1.0	1.0	102
	1:800	0.5	0.5	98
(Jo-1)	1:100	4.3	4.3	100
	1:200	2.1	2.2	96
	1:400	1.0	1.1	96
	1:800	0.5	0.5	94

Предел обнаружения

не применимо n.a.

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.
Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ		
Проба	Значение Индекс	CV %

Анализ между сериями		
Проба	Значение Индекс	CV %

SS-A	1.5	4.3
SS-B	1.3	5.0
Sm	1.7	3.1
RNP/Sm	1.1	3.9
Scl-70	1.3	3.1
Jo-1	1.4	4.2

SS-A	1.4	3.6
SS-B	1.2	4.0
Sm	1.7	2.3
RNP/Sm	1.2	3.6
Scl-70	1.2	2.9
Jo-1	1.3	3.4

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n Поз*	%
СКВ	63	56	88.9
Синдром Шегрена	10	10	100.0
MCTD	10	10	100.0
Склеродермия	10	10	100.0
Ревматоидный артрит	8	5	62.5
Нормальные человеческие сыворотки	9	4	44.4
	60	2	3.3
	148	3	2.0

* положительный результат на один или несколько антигенов

		Клинический диагноз		
		Поз.	Нег.	
ORG 546	Поз	95	5	
	Нег	15	203	
		110	208	318
		86.4 %		
		97.6 %		
		93.7 %		

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Приведенные выше патологические и нормальные референсные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Velte CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sci 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?--The routine use of anti-nuclear antibody screening ELISAs. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль

Прежняя версия*ORG 546_IFU_DE_QM112971_2018-01-02_3* Причина пересмотра: Для лучшего понимания: "RNP" изменен на "RNP/Sm"

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. **100 µl** Standards, Kontrollen und verdünnte Patientenproben pipettieren
   → **30 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren
   → Inhalt der Platte verwerfen und 3 mal mit **300 µl** Waschpuffer waschen
2. **100 µl** Enzymkonjugatlösung pipettieren
   → **15 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren
   → Inhalt der Platte verwerfen und 3 mal mit **300 µl** Waschpuffer waschen
3. **100 µl** Substratlösung pipettieren
   → **15 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren
4. **100 µl** Stopplösung zugeben
   → Platte **5 Minuten** stehenlassen
   → Bei **450 nm** messen

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-dsDNA

96 тестов

Кат. Номер ORG 604

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского оригинала. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANTI-dsDNA предназначен для количественного определения антител класса G против двуспиральной ДНК в человеческой сыворотке или плазме. Этот метод предназначен для диагностики *in vitro* только системной красной волчанки.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Аутоиммунные заболевания характеризуются присутствием антител против собственных антигенных структур - так называемые аутоантитела. Наличие аутоантител к нативной дезоксирибонуклеиновой кислоте (н-ДНК, дсДНК, двунитевой ДНК) типично для клинической картины системной красной волчанки (СКВ).

Антитела против дсДНК относятся к группе антинуклеарных антител (АНА), направленных против различных структур ядра клетки. Они появляются при различных ревматоидных заболеваниях. Кроме АНА интерес представляют антитела другой группы, направленные против так называемых экстрагируемых ядерных антигенов (ENA). Критерии Американской Ассоциации Ревматологии предлагают развернутую схему диагностики СКВ. При наличии по меньшей мере 4 из 11 критериев высока вероятность СКВ [8].

Антитела к дсДНК обнаруживаются в активной фазе СКВ, при этом их сывороточная концентрация обнаруживает положительную корреляцию с тяжестью заболевания. Возможно мониторирование проводимой терапии по концентрации этих антител. Диагностическая чувствительность определения антител к дсДНК при СКВ составляет примерно 91%, диагностическая специфичность - около 96%.

Антитела к ДНК подразделяются на 2 группы:

1. Антитела, которые связываются только с нативной двунитевой ДНК (дсДНК)
2. Антитела, которые также реагируют с однонитевой ДНК (осДНК).

Определение антинуклеарных антител (или антинуклеарного фактора) методом непрямой иммунофлуоресценции широко распространено в качестве скринингового метода диагностики СКВ. Однако на некоторых стадиях заболевания или на фоне проводимой терапии данный метод может давать ложные результаты, при этом требуется более специфичная тест-система. Негативный результат исследования антинуклеарных антител методом иммунофлуоресценции не исключает наличия антител к дсДНК, так как антигенные структуры могут быть замаскированы другими структурами. Более того, уровень антинуклеарных антител, определенный методом иммунофлуоресценции, обнаруживает только слабую корреляцию с тяжестью заболевания.

Большинство антител к дсДНК направлены против фосфатного компонента ДНК. Таким образом, эти антитела также реагируют с одиночными нитями ДНК. Для количественного определения антител к дсДНК необходимо, чтобы используемый антигенный препарат ДНК не был загрязнен однонитевой ДНК.

Антитела к однонитевой ДНК в основном направлены против нуклеотидного компонента, который в нативной ДНК скрывается внутри спиральной пространственной структуры молекулы. В сыворотке больных СКВ антитела к однонитевой ДНК обнаруживаются с частотой до 87% в активной фазе и до 43% в неактивной фазе.

СКВ также может быть обусловлена лекарственными препаратами. Для дифференциальной диагностики лекарственной волчанки используется определение антител к однонитевой ДНК. При данной патологии уровень антител к однонитевой ДНК повышается более чем в 50% случаев. Также данные антитела обнаруживают в сыворотке больных мононуклеозом, гепатитом и различными формами лейкемии.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты человеческой рекомбинантной двуспиральной ДНК. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 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.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Следовательно, с реагентами и образцами крови следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.

4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.

5 Стоп-раствор содержит раствор фосфорной кислоты. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.

6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)

7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.

8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.

9 Не отбирайте образцы ртом

10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.

11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых человеческой рекомбинантной двунитевой ДНК (dsDNA). Готов для использования.	1
Стандарты комбинированные (A-F) с анти-dsDNA в сывороточно-буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие следующие концентрации: 0, 12.5, 25, 50, 100 и 200 Ед/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к двунитевой ДНК (1-положительный и 2-отрицательный) в сывороточно-буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов, желтый, ***концентрат (5x)***	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие анти-IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C

2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем

3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.

4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.

5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Соберите образец цельной крови стандартной венопункцией, избегая гемолиза.

1 Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием

2 Избегайте гемолиза, липемии или микробиологического загрязнения сыворотки

3 Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.

4 Для предотвращения повторных циклов замораживания-оттаивания (это может привести к потере активности антител) следует приготовить аликвоты образцов.

5 Все пробы сыворотки и плазмы должны быть разбавлены 1:100 буфером для образцов. Следовательно, 10 мкл образца могут быть разбавлены 1000 мкл буфера.

6 Использование для анализа инактивированной нагреванием сыворотки не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.

2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.

3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28^{o}C).

4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.

5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.

6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.

7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре (18-28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного и положительного контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов

Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации и log-log координаты.

Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага.

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе при определении антител к двунитевой ДНК. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Стандарты (С)									
No	Лунка	ОП 1	ОП 2	Среднее	Конц 1 яч.	Конц 2 яч.	Среднее	Заявл. Конц.	CV %
CT1	A 1 / B 1	0.023	0.021	0.022	0.0	0.0	0.0	0.0	9
CT2	C 1 / D 1	0.174	0.174	0.174	13	13	13	12	0
CT3	E 1 / F 1	0.336	0.335	0.336	25	25	25	25	0
CT4	G 1 / H 1	0.643	0.658	0.651	49	50	50	50	2
CT5	A 2 / B 2	1.172	1.173	1.173	101	101	101	100	0
CT6	C 2 / D 2	1.809	1.788	1.799	201	197	199	200	1

Ожидаемые значения

При изучении нормального диапазона использовались образцы сыворотки из крови здоровых доноров, и был установлен следующий диапазон значений для антител против dsDNA:

	IgG -антитела к dsDNA, Ед/мл
Cut-off:	$\geq$ 20

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к двуспиральной ДНК.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями IgG-антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы. Анализ был линеен во всем диапазоне измерения.

Образец №	Разведение	Полученное [Ед/мл]	Ожидаемое [Ед/мл]	П/О, %
1	1:100	104.2		
	1:200	50.6	52.1	97
	1:400	24.9	26.1	95
	1:800	11.2	13.0	86
2	1:200	135.3		
	1:400	68.9	67.7	102
	1:800	35.2	33.8	104
	1:1600	18.2	16.9	108

Воспроизводимость
Статистика для коэффициентов вариации (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии, воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	26	4.5
2	61	3.1
3	114	6.4

Между сериями		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	29	12.4
2	68	7.3
3	138	5.2

ЧУВТСТВИТЕЛЬНОСТЬ
Нижняя граница определения для анти-дсДНК IgG антител была определена 1,0 Ед/мл.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Микропланшет покрыт рекомбинантной двунитевой ДНК. Новая технология сорбции сохраняет антигенную структуру молекул, а также исключает сорбцию однонитевой ДНК. Таким образом, тест специфичен только для аутоантител к dsDNA.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

КАЛИБРОВКА
Тест-система прокалибрована против международного стандарта аутоантител к двуспиральной ДНК человека W0/80 с найденной концентрацией 200 Ед/мл при разведении в 0,5 мл.

Ограничения метода
Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Отрицательный результат не исключает наличия СКВ.

Интерференции
Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

Литература
1. Condemi, John J. The Autoimmune Diseases. The Journal of the American Medical
Associason 1987; Vo. 258, no. 20: 2920 - 2929.
2. Harley, John B. and Gaither, Kimberley K. Autoantibodies. Rheumatic Disease Clincs of
Norht America 1988; Vo. 14, no. 1: 43 - 56.
3. Hartung, K, and Deicher, H. Systemischer Lupus erythematodes. Allergologie 1985;
Jahrgang 8, Nr. 7: 275 - 281.
4. Feltkamp, T. E. W. et al. The first international standard for antibodies to double stranded
DNA. Annals of the Rheumatic Diseases 1988; Vo. 47: 740 - 746.
5. Leon, S. A. et al. Avidity of Antibodies in SLE. Arthritis and Rheumatism 1977; Vo. 20, no.1:
23 - 29.
6. Smeenk, R. et al. Avidity of Antibodies to dsDNA: Comparison of IFT on Crithidia Luciliae,
Farr Assay andPEG Assay. The Journal of Immunology 1982, Vo. 128, no. 1: 73 - 78.
7. Smeenk, R. et al. Specificity in Systemic Lupus Erythematosus of Antibodies to doublestranded
DNA measured with the Polyethylene Glycol Precipitation Assay. Arthritis and Rheumatism 1982; Vo. 25, no. 6: 631 - 638.
8. Egner, W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. J. Clin. Pathol., 2000,
53:424-432.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
Антитела к двуспиральной ДНК

Добавить	Контроли
100 µл стандарты в микроячейки	**100 µл** или пробы пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного конъюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**
Считать при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-dsDNA IgA

96 тестов

Кат. Номер ORG 604A

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского оригинала. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANTI-dsDNA IgA предназначен для количественного определения антител класса А против двуспиральной ДНК в человеческой сыворотке или плазме. Этот метод предназначен для диагностики *in vitro* только системной красной волчанки.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Аутоиммунные заболевания характеризуются присутствием антител против собственных антигенных структур - так называемые аутоантитела. Наличие аутоантител к нативной дезоксирибонуклеиновой кислоте (н-ДНК, дсДНК, двунитевой ДНК) типично для клинической картины системной красной волчанки (СКВ).

Антитела против дсДНК относятся к группе антинуклеарных антител (АНА), направленных против различных структур ядра клетки. Они появляются при различных ревматоидных заболеваниях. Кроме АНА интерес представляют антитела другой группы, направленные против так называемых экстрагируемых ядерных антигенов (ENA). Критерии Американской Ассоциации Ревматологии предлагают развернутую схему диагностики СКВ. При наличии по меньшей мере 4 из 11 критериев высока вероятность СКВ [8].

Антитела к дсДНК обнаруживаются в активной фазе СКВ, при этом их сывороточная концентрация обнаруживает положительную корреляцию с тяжестью заболевания. Возможно мониторирование проводимой терапии по концентрации этих антител. Диагностическая чувствительность определения антител к дсДНК при СКВ составляет примерно 91%, диагностическая специфичность - около 96%.

Антитела к ДНК подразделяются на 2 группы:

1. Антитела, которые связываются только с нативной двунитевой ДНК (дсДНК)
2. Антитела, которые также реагируют с однонитевой ДНК (осДНК).

Определение антинуклеарных антител (или антинуклеарного фактора) методом непрямой иммунофлуоресценции широко распространено в качестве скринингового метода диагностики СКВ. Однако на некоторых стадиях заболевания или на фоне проводимой терапии данный метод может давать ложные результаты, при этом требуется более специфичная тест-система. Негативный результат исследования антинуклеарных антител методом иммунофлуоресценции не исключает наличия антител к дсДНК, так как антигенные структуры могут быть замаскированы другими структурами. Более того, уровень антинуклеарных антител, определенный методом иммунофлуоресценции, обнаруживает только слабую корреляцию с тяжестью заболевания.

Большинство антител к дсДНК направлены против фосфатного компонента ДНК. Таким образом, эти антитела также реагируют с одиночными нитями ДНК. Для количественного определения антител к дсДНК необходимо, чтобы используемый антигенный препарат ДНК не был загрязнен однонитевой ДНК.

Антитела к однонитевой ДНК в основном направлены против нуклеотидного компонента, который в нативной ДНК скрывается внутри спиральной пространственной структуры молекулы. В сыворотке больных СКВ антитела к однонитевой ДНК обнаруживаются с частотой до 87% в активной фазе и до 43% в неактивной фазе.

СКВ также может быть обусловлена лекарственными препаратами. Для дифференциальной диагностики лекарственной волчанки используется определение антител к однонитевой ДНК. При данной патологии уровень антител к однонитевой ДНК повышается более чем в 50% случаев. Также данные антитела обнаруживают в сыворотке больных мононуклеозом, гепатитом и различными формами лейкемии.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Лунки планшета покрыты человеческой рекомбинантной двуспиральной ДНК. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела к IgA человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgA антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 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.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит раствор фосфорной кислоты. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых человеческой рекомбинантной двунитевой ДНК (dsDNA). Готов для использования.	1
Стандарты комбинированные (A-F) с анти-dsDNA в сывороточно-буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие следующие концентрации IgA: 0, 12.5, 25, 50, 100 и 200 Ед/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к двунитевой ДНК (1-положительный и 2-отрицательный) в сывороточно-буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов, желтый, ***концентрат (5x)***	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие анти-IgA антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Лунки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образец цельной крови стандартной венопункцией, избегая гемолиза.
2. Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3. Избегайте гемолиза, липемии или микробиологического загрязнения сыворотки.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.
5. Для предотвращения повторных циклов замораживания-оттаивания (это может привести к потере активности антител) следует приготовить аликвоты образцов.
6. Использование для анализа инактивированной нагреванием сыворотки не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28°C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре (18-28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного и положительного контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов

Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации и log-log координаты.

Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага.

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе при определении антител к двунитевой ДНК. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Стандарты (С)									
No	Лунка	ОП 1	ОП 2	Среднее	Конц 1 яч.	Конц 2 яч.	Среднее	Заявл. Конц.	CV %
CT1	A 1 / B 1	0.023	0.021	0.022	0.0	0.0	0.0	0.0	9
CT2	C 1 / D 1	0.174	0.174	0.174	13	13	13	12	0
CT3	E 1 / F 1	0.336	0.335	0.336	25	25	25	25	0
CT4	G 1 / H 1	0.643	0.658	0.651	49	50	50	50	2
CT5	A 2 / B 2	1.172	1.173	1.173	101	101	101	100	0
CT6	C 2 / D 2	1.809	1.788	1.799	201	197	199	200	1

Ожидаемые значения

При изучении нормального диапазона использовались образцы сыворотки из крови здоровых доноров, и был установлен следующий диапазон значений для антител против dsDNA:

	IgA -антитела к dsDNA, Ед/мл
Cut-off:	$\geq$ 20

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к двуспиральной ДНК.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями IgA-антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы. Анализ был линеен во всем диапазоне измерения.

Образец №	Разведение	Полученное [Ед/мл]	Ожидаемое [Ед/мл]	П/О, %
1	1:100	104.2		
	1:200	50.6	52.1	97
	1:400	24.9	26.1	95
	1:800	11.2	13.0	86
2	1:200	135.3		
	1:400	68.9	67.7	102
	1:800	35.2	33.8	104
	1:1600	18.2	16.9	108

Воспроизводимость

Статистика для коэффициентов вариации (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии, воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	26	4.5
2	61	3.1
3	114	6.4

Между сериями		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	29	12.4
2	68	7.3
3	138	5.2

ЧУВТСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Нижняя граница определения для анти-дсДНК IgA антител была определена 1,0 Ед/мл.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Микропланшет покрыт рекомбинантной двунитевой ДНК. Новая технология сорбции сохраняет антигенную структуру молекул, а также исключает сорбцию однонитевой ДНК. Таким образом, тест специфичен только для аутоантител к dsDNA.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Ограничения метода

Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Отрицательный результат не исключает наличия СКВ.

Интерференции

Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

Литература

1. Condemi, John J. The Autoimmune Diseases. The Journal of the American Medical
Associason 1987; Vo. 258, no. 20: 2920 - 2929.
2. Harley, John B. and Gaither, Kimberley K. Autoantibodies. Rheumatic Disease Clincs of
Norht America 1988; Vo. 14, no. 1: 43 - 56.
3. Hartung, K, and Deicher, H. Systemischer Lupus erythematodes. Allergologie 1985;
Jahrgang 8, Nr. 7: 275 - 281.
4. Feltkamp, T. E. W. et al. The first international standard for antibodies to double stranded
DNA. Annals of the Rheumatic Diseases 1988; Vo. 47: 740 - 746.
5. Leon, S. A. et al. Avidity of Antibodies in SLE. Arthritis and Rheumatism 1977; Vo. 20, no.1:
23 - 29.
6. Smeenk, R. et al. Avidity of Antibodies to dsDNA: Comparison of IFT on Crithidia Luciliae,
Farr Assay andPEG Assay. The Journal of Immunology 1982, Vo. 128, no. 1: 73 - 78.
7. Smeenk, R. et al. Specificity in Systemic Lupus Erythematosus of Antibodies to doublestranded
DNA measured with the Polyethylene Glycol Precipitation Assay. Arthritis and Rheumatism 1982; Vo. 25, no. 6: 631 - 638.
8. Egner, W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. J. Clin. Pathol., 2000,
53:424-432.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
Антитела к двуспиральной ДНК

Добавить	Контроли
100 µл стандарты в микроячейки	**100 µл** или пробы пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного конъюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**
Считать при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-dsDNA IgM

96 тестов

Кат. Номер ORG 604M

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского оригинала. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANTI-dsDNA IgM предназначен для количественного определения антител класса M против двуспиральной ДНК в человеческой сыворотке или плазме. Этот метод предназначен для диагностики *in vitro* только системной красной волчанки.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Аутоиммунные заболевания характеризуются присутствием антител против собственных антигенных структур - так называемые аутоантитела. Наличие аутоантител к нативной дезоксирибонуклеиновой кислоте (н-ДНК, дсДНК, двунитевой ДНК) типично для клинической картины системной красной волчанки (СКВ).

Антитела против дсДНК относятся к группе антинуклеарных антител (АНА), направленных против различных структур ядра клетки. Они появляются при различных ревматоидных заболеваниях. Кроме АНА интерес представляют антитела другой группы, направленные против так называемых экстрагируемых ядерных антигенов (ENA). Критерии Американской Ассоциации Ревматологии предлагают развернутую схему диагностики СКВ. При наличии по меньшей мере 4 из 11 критериев высока вероятность СКВ [8].

Антитела к дсДНК обнаруживаются в активной фазе СКВ, при этом их сывороточная концентрация обнаруживает положительную корреляцию с тяжестью заболевания. Возможно мониторирование проводимой терапии по концентрации этих антител. Диагностическая чувствительность определения антител к дсДНК при СКВ составляет примерно 91%, диагностическая специфичность - около 96%.

Антитела к ДНК подразделяются на 2 группы:

1. Антитела, которые связываются только с нативной двунитевой ДНК (дсДНК)
2. Антитела, которые также реагируют с однонитевой ДНК (осДНК).

Определение антинуклеарных антител (или антинуклеарного фактора) методом непрямой иммунофлуоресценции широко распространено в качестве скринингового метода диагностики СКВ. Однако на некоторых стадиях заболевания или на фоне проводимой терапии данный метод может давать ложные результаты, при этом требуется более специфичная тест-система. Негативный результат исследования антинуклеарных антител методом иммунофлуоресценции не исключает наличия антител к дсДНК, так как антигенные структуры могут быть замаскированы другими структурами. Более того, уровень антинуклеарных антител, определенный методом иммунофлуоресценции, обнаруживает только слабую корреляцию с тяжестью заболевания.

Большинство антител к дсДНК направлены против фосфатного компонента ДНК. Таким образом, эти антитела также реагируют с одиночными нитями ДНК. Для количественного определения антител к дсДНК необходимо, чтобы используемый антигенный препарат ДНК не был загрязнен однонитевой ДНК.

Антитела к однонитевой ДНК в основном направлены против нуклеотидного компонента, который в нативной ДНК скрывается внутри спиральной пространственной структуры молекулы. В сыворотке больных СКВ антитела к однонитевой ДНК обнаруживаются с частотой до 87% в активной фазе и до 43% в неактивной фазе.

СКВ также может быть обусловлена лекарственными препаратами. Для дифференциальной диагностики лекарственной волчанки используется определение антител к однонитевой ДНК. При данной патологии уровень антител к однонитевой ДНК повышается более чем в 50% случаев. Также данные антитела обнаруживают в сыворотке больных мононуклеозом, гепатитом и различными формами лейкемии.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Лунки планшета покрыты человеческой рекомбинантной двуспиральной ДНК. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела к IgM человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgM антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту B 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.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит раствор фосфорной кислоты. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых человеческой рекомбинантной двунитевой ДНК (dsDNA). Готов для использования.	1
Стандарты комбинированные (A-F) с анти-dsDNA в сывороточно-буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие следующие концентрации IgM: 0, 12.5, 25, 50, 100 и 200 Ед/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к двунитевой ДНК (1-положительный и 2-отрицательный) в сывороточно-буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов, желтый, ***концентрат (5x)***	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие анти-IgM антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Лунки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образец цельной крови стандартной венопункцией, избегая гемолиза.
2. Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3. Избегайте гемолиза, липемии или микробиологического загрязнения сыворотки.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.
5. Для предотвращения повторных циклов замораживания-оттаивания (это может привести к потере активности антител) следует приготовить аликвоты образцов.
6. Использование для анализа инактивированной нагреванием сыворотки не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28°C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре (18-28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного и положительного контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов

Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации и log-log координаты.

Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага.

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе при определении антител к двунитевой ДНК. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Стандарты (С)									
No	Лунка	ОП 1	ОП 2	Среднее	Конц 1 яч.	Конц 2 яч.	Среднее	Заявл. Конц.	CV %
CT1	A 1 / B 1	0.023	0.021	0.022	0.0	0.0	0.0	0.0	9
CT2	C 1 / D 1	0.174	0.174	0.174	13	13	13	12	0
CT3	E 1 / F 1	0.336	0.335	0.336	25	25	25	25	0
CT4	G 1 / H 1	0.643	0.658	0.651	49	50	50	50	2
CT5	A 2 / B 2	1.172	1.173	1.173	101	101	101	100	0
CT6	C 2 / D 2	1.809	1.788	1.799	201	197	199	200	1

Ожидаемые значения

При изучении нормального диапазона использовались образцы сыворотки из крови здоровых доноров, и был установлен следующий диапазон значений для антител против dsDNA:

	IgM -антитела к dsDNA, Ед/мл
Cut-off:	$\geq$ 20

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к двуспиральной ДНК.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями IgM-антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы. Анализ был линеен во всем диапазоне измерения.

Образец №	Разведение	Полученное [Ед/мл]	Ожидаемое [Ед/мл]	П/О, %
1	1:100	104.2		
	1:200	50.6	52.1	97
	1:400	24.9	26.1	95
	1:800	11.2	13.0	86
2	1:200	135.3		
	1:400	68.9	67.7	102
	1:800	35.2	33.8	104
	1:1600	18.2	16.9	108

Воспроизводимость

Статистика для коэффициентов вариации (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии, воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	26	4.5
2	61	3.1
3	114	6.4

Между сериями		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	29	12.4
2	68	7.3
3	138	5.2

ЧУВТСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Нижняя граница определения для анти-дсДНК IgM антител была определена 1,0 Ед/мл.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Микропланшет покрыт рекомбинантной двунитевой ДНК. Новая технология сорбции сохраняет антигенную структуру молекул, а также исключает сорбцию однонитевой ДНК. Таким образом, тест специфичен только для аутоантител к dsDNA.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Ограничения метода

Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Отрицательный результат не исключает наличия СКВ.

Интерференции

Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

Литература

1. Condemi, John J. The Autoimmune Diseases. The Journal of the American Medical
Associason 1987; Vo. 258, no. 20: 2920 - 2929.
2. Harley, John B. and Gaither, Kimberley K. Autoantibodies. Rheumatic Disease Clincs of
Norht America 1988; Vo. 14, no. 1: 43 - 56.
3. Hartung, K, and Deicher, H. Systemischer Lupus erythematodes. Allergologie 1985;
Jahrgang 8, Nr. 7: 275 - 281.
4. Feltkamp, T. E. W. et al. The first international standard for antibodies to double stranded
DNA. Annals of the Rheumatic Diseases 1988; Vo. 47: 740 - 746.
5. Leon, S. A. et al. Avidity of Antibodies in SLE. Arthritis and Rheumatism 1977; Vo. 20, no.1:
23 - 29.
6. Smeenk, R. et al. Avidity of Antibodies to dsDNA: Comparison of IFT on Crithidia Luciliae,
Farr Assay andPEG Assay. The Journal of Immunology 1982, Vo. 128, no. 1: 73 - 78.
7. Smeenk, R. et al. Specificity in Systemic Lupus Erythematosus of Antibodies to doublestranded
DNA measured with the Polyethylene Glycol Precipitation Assay. Arthritis and Rheumatism 1982; Vo. 25, no. 6: 631 - 638.
8. Egner, W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. J. Clin. Pathol., 2000,
53:424-432.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
Антитела к двуспиральной ДНК

Добавить	Контроли
100 µл стандарты в микроячейки	**100 µл** или пробы пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного конъюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**
Считать при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-dsDNA Screen

96 тестов

Кат. Номер ORG 604S

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского оригинала. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANTI-dsDNA Screen предназначен для количественного определения антител классов G, M, A против двуспиральной ДНК в человеческой сыворотке или плазме. Этот метод предназначен для диагностики *in vitro* только системной красной волчанки.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Аутоиммунные заболевания характеризуются присутствием антител против собственных антигенных структур - так называемые аутоантитела. Наличие аутоантител к нативной дезоксирибонуклеиновой кислоте (н-ДНК, дсДНК, двунитевой ДНК) типично для клинической картины системной красной волчанки (СКВ).

Антитела против дсДНК относятся к группе антинуклеарных антител (АНА), направленных против различных структур ядра клетки. Они появляются при различных ревматоидных заболеваниях. Кроме АНА интерес представляют антитела другой группы, направленные против так называемых экстрагируемых ядерных антигенов (ENA). Критерии Американской Ассоциации Ревматологии предлагают развернутую схему диагностики СКВ. При наличии по меньшей мере 4 из 11 критериев высока вероятность СКВ [8].

Антитела к дсДНК обнаруживаются в активной фазе СКВ, при этом их сывороточная концентрация обнаруживает положительную корреляцию с тяжестью заболевания. Возможно мониторирование проводимой терапии по концентрации этих антител. Диагностическая чувствительность определения антител к дсДНК при СКВ составляет примерно 91%, диагностическая специфичность - около 96%.

Антитела к ДНК подразделяются на 2 группы:

1. Антитела, которые связываются только с нативной двунитевой ДНК (дсДНК)
2. Антитела, которые также реагируют с однонитевой ДНК (осДНК).

Определение антинуклеарных антител (или антинуклеарного фактора) методом непрямой иммунофлуоресценции широко распространено в качестве скринингового метода диагностики СКВ. Однако на некоторых стадиях заболевания или на фоне проводимой терапии данный метод может давать ложные результаты, при этом требуется более специфичная тест-система. Негативный результат исследования антинуклеарных антител методом иммунофлуоресценции не исключает наличия антител к дсДНК, так как антигенные структуры могут быть замаскированы другими структурами. Более того, уровень антинуклеарных антител, определенный методом иммунофлуоресценции, обнаруживает только слабую корреляцию с тяжестью заболевания.

Большинство антител к дсДНК направлены против фосфатного компонента ДНК. Таким образом, эти антитела также реагируют с одиночными нитями ДНК. Для количественного определения антител к дсДНК необходимо, чтобы используемый антигенный препарат ДНК не был загрязнен однонитевой ДНК.

Антитела к однонитевой ДНК в основном направлены против нуклеотидного компонента, который в нативной ДНК скрывается внутри спиральной пространственной структуры молекулы. В сыворотке больных СКВ антитела к однонитевой ДНК обнаруживаются с частотой до 87% в активной фазе и до 43% в неактивной фазе.

СКВ также может быть обусловлена лекарственными препаратами. Для дифференциальной диагностики лекарственной волчанки используется определение антител к однонитевой ДНК. При данной патологии уровень антител к однонитевой ДНК повышается более чем в 50% случаев. Также данные антитела обнаруживают в сыворотке больных мононуклеозом, гепатитом и различными формами лейкемии.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты человеческой рекомбинантной двуспиральной ДНК. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела к IgG, IgM и IgA человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG, IgM и IgA антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту B и ВИЧ. Однако ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Следовательно, с реагентами и образцами крови следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.

4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.

5 Стоп-раствор содержит раствор фосфорной кислоты. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.

6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)

7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.

8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.

9 Не отбирайте образцы ртом

10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.

11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых человеческой рекомбинантной двунитевой ДНК (dsDNA). Готов для использования.	1
Стандарты комбинированные (A-F) с анти-dsDNA в сывороточно-буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие следующие концентрации: 0, 12.5, 25, 50, 100 и 200 Ед/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к двунитевой ДНК (1-положительный и 2-отрицательный) в сывороточно-буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов, желтый, ***концентрат (5x)***	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий смесь поликлональных кроличьих античеловеческих анти-IgG-IgG, анти-IgM-IgG, анти-IgA-IgG антител, меченых пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C

2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем

3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.

4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.

5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Соберите образец цельной крови стандартной венопункцией, избегая гемолиза.

1 Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием

2 Избегайте гемолиза, липемии или микробиологического загрязнения сыворотки

3 Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.

4 Для предотвращения повторных циклов замораживания-оттаивания (это может привести к потере активности антител) следует приготовить аликвоты образцов.

5 Все пробы сыворотки и плазмы должны быть разбавлены 1:100 буфером для образцов. Следовательно, 10 мкл образца могут быть разбавлены 1000 мкл буфера.

6 Использование для анализа инактивированной нагреванием сыворотки не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.

2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.

3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28^{o}C).

4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.

5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.

6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре (18-28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного и положительного контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов

Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации и log-log координаты.

Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага.

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе при определении антител к двунитевой ДНК. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Стандарты (С)									
No	Лунка	ОП 1	ОП 2	Среднее	Конц 1 яч.	Конц 2 яч.	Среднее	Заявл. Конц.	CV %
CT1	A 1 / B 1	0.023	0.021	0.022	0.0	0.0	0.0	0.0	9
CT2	C 1 / D 1	0.174	0.174	0.174	13	13	13	12	0
CT3	E 1 / F 1	0.336	0.335	0.336	25	25	25	25	0
CT4	G 1 / H 1	0.643	0.658	0.651	49	50	50	50	2
CT5	A 2 / B 2	1.172	1.173	1.173	101	101	101	100	0
CT6	C 2 / D 2	1.809	1.788	1.799	201	197	199	200	1

Ожидаемые значения

При изучении нормального диапазона использовались образцы сыворотки из крови здоровых доноров, и был установлен следующий диапазон значений для антител против dsDNA:

	IgG/ IgM/ IgA -антитела к dsDNA, Ед/мл
Cut-off:	≥ 20

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к двуспиральной ДНК.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями IgG, IgM и IgA-антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы. Анализ был линеен во всем диапазоне измерения.

Образец №	Разведение	Полученное [Ед/мл]	Ожидаемое [Ед/мл]	П/О, %
1	1:100	104.2		
	1:200	50.6	52.1	97
	1:400	24.9	26.1	95
	1:800	11.2	13.0	86
2	1:200	135.3		
	1:400	68.9	67.7	102
	1:800	35.2	33.8	104
	1:1600	18.2	16.9	108

Воспроизводимость
Статистика для коэффициентов вариации (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии, воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	26	4.5
2	61	3.1
3	114	6.4

Между сериями		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	29	12.4
2	68	7.3
3	138	5.2

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Микропланшет покрыт рекомбинантной двунитевой ДНК. Новая технология сорбции сохраняет антигенную структуру молекул, а также исключает сорбцию однонитевой ДНК. Таким образом, тест специфичен только для аутоантител к dsDNA.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

КАЛИБРОВКА
Тест-система прокалибрована против международного стандарта аутоантител к двуспиральной ДНК человека W0/80 с найденной концентрацией 200 Ед/мл при разведении в 0,5 мл.

Ограничения метода
Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Отрицательный результат не исключает наличия СКВ.

Интерференции
Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

Литература
1. Condemi, John J. The Autoimmune Diseases. The Journal of the American Medical
Associason 1987; Vo. 258, no. 20: 2920 - 2929.
2. Harley, John B. and Gaither, Kimberley K. Autoantibodies. Rheumatic Disease Clincs of
Norht America 1988; Vo. 14, no. 1: 43 - 56.
3. Hartung, K, and Deicher, H. Systemischer Lupus erythematodes. Allergologie 1985;
Jahrgang 8, Nr. 7: 275 - 281.
4. Feltkamp, T. E. W. et al. The first international standard for antibodies to double stranded
DNA. Annals of the Rheumatic Diseases 1988; Vo. 47: 740 - 746.
5. Leon, S. A. et al. Avidity of Antibodies in SLE. Arthritis and Rheumatism 1977; Vo. 20, no.1:
23 - 29.
6. Smeenk, R. et al. Avidity of Antibodies to dsDNA: Comparison of IFT on Crithidia Luciliae,
Farr Assay andPEG Assay. The Journal of Immunology 1982, Vo. 128, no. 1: 73 - 78.
7. Smeenk, R. et al. Specificity in Systemic Lupus Erythematosus of Antibodies to doublestranded
DNA measured with the Polyethylene Glycol Precipitation Assay. Arthritis and Rheumatism 1982; Vo. 25, no. 6: 631 - 638.
8. Egner, W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. J. Clin. Pathol., 2000,
53:424-432.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
Антитела к двуспиральной ДНК

Добавить	Контроли
100 µл стандарты в микроячейки	**100 µл** или пробы пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного конъюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**
Считать при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

528_3

ORG 528 Anti-Nucleosome

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Anti-Nucleosome (Анти-Нуклеосомы) - это тест-система ELISA для количественного измерения аутоантител класса IgG к нуклеосомам в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики. Определение аутоантител против нуклеосом является вспомогательным средством в диагностике системной красной волчанки (СКВ), особенно, если антитела против дсДНК не обнаруживаются. Оценка результатов теста всегда должна учитывать все клинические и лабораторные диагностические данные.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не используйте повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
528_3	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR A	Калибратор
CALIBRATOR B	Калибратор
CALIBRATOR C	Калибратор
CALIBRATOR D	Калибратор
CALIBRATOR E	Калибратор
CALIBRATOR F	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE	Ферментный конъюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Человеческие нуклеосомы абсорбированы на поверхности микропланшетных лунок.
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами: Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 528	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоит из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Код продукта на модуле: ***NUC***
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 0 Ед/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 12,5 Ед/мл, содержащий нуклеосомные антитела в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 25 Ед/мл, содержащий нуклеосомные антитела в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 50 Ед/мл, содержащий нуклеосомные антитела в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 100 Ед/мл, содержащий нуклеосомные антитела в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F	1x 1.5 ml	Калибратор F 200 Ед/мл, содержащий нуклеосомные антитела в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 ml	Контроль положительный, содержащий нуклеосомные антитела в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий нуклеосомные антитела в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Дилюент PD, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий антитела IgG против человека, меченный HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления.

Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.

- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.

Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшетов для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл конъюгата фермента в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

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

P1, ... Проба пациентаA-F Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.

Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Калибровка

Эта система анализа откалибрована в условных единицах, поскольку для этого анализа не существует международного эталонного препарата.

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет 0 - 200 U/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off 20 U/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный: < 20 U/ml
Положительный: ≥ 20 U/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый U/ml	Ожидаемый U/ml	H/O [%]
1	1:100	94.3	94.3	100
.	1:200	50.3	47.2	107
.	1:400	23.6	23.6	100
.	1:800	12.4	11.8	105
2	1:100	89.6	89.6	100
.	1:200	43.8	44.8	98
.	1:400	24.0	22.4	107
.	1:800	13.1	11.2	117

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: 0.5 U/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.

Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	26.0	4.5
2	61.0	3.1
3	114.0	6.4

Анализ между сериями		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	29.0	12.4
2	68.0	7.3
3	138.0	5.2

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n Поз	%
СКВ	110	107	97.3
Ревматоидный артит	20	0	0.0
Нормальные человеческие сыворотки	200	7	3.5

		Клинический диагноз	
		Поз	Нег
ORG 528	Поз	107	7
.	Нег	3	213
		110	220

330

Чувствительность: 97.3 %
Специфичность: 96.8 %
Общая достоверность: 97.0 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Приведенные выше патологические и нормальные референсные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Burlingame RW, Boey ML, Starkebaum G, et al. The central role of chromatin in autoimmune responses to histones and DNA in systemic lupus erythematosus. J Clin Invest, Jul 1994, 94(1) p184-92
2. Hardin J. A. The lupus autoantigens and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum, Apr 1986, 29 (4) p457-60
3. Amital H, Shoenfeld Y. Nucleosomes, DNA and SLE: where is the starting point? [editorial; comment]. Clin Exp Rheumatol, Sep-Oct 1996, 14 (5) p475-7
4. Burlingame R. W. The clinical utility of antihistone antibodies. Autoantibodies reactive with chromatin in systemic lupus erythematosus and drug-induced lupus. Clin Lab Med, Sep 1997, 17(3) p367-78
5. Berden J. H., Licht R., van Bruggen M. C., et al. Role of nucleosomes for induction and glomerular binding of autoantibodies in lupus nephritis. Curr Opin Nephrol Hypertens, May 1999, 8(3) p299-306
6. Amoura Z., Koutouzov S., Chabre H., et al. Presence of anti-nucleosome autoantibodies in a restricted set of connective tissue diseases: anti-nucleosome antibodies of the IgG3 subclass are markers of renal pathogenicity in systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum, Jan 2000, 43(1) p76-84
7. Chabre H., Amoura Z., Piette J. C., et al. Presence of nucleosome-restricted antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum, Oct 1995, 38.(10) p1485-91
8. Holman HR, Kunkel HG Affinity between the lupus erythematosus serum factor and cell nuclei and nucleoprotein. Science, 1957, 126 p.162-3

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):

О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль

Прежняя версия: *ORG 528_IFU_EN_QM113162*_2013-12-16_1.2 Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-C1q
96 тестов

Кат. № ORG 549

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный метод Anti-C1q предназначен для количественного определения IgG аутоантител к C1q в человеческой сыворотке или плазме методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Набор предназначен только для диагностики in vitro.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Классический путь системы комплемента очень важен для защиты от повреждений иммунными комплексами. C1q играет центральную роль на первом этапе классического пути активации комплемента. Глобулярные домены C1q связывают Fc регионы иммуноглобулинов IgM или IgG, таким образом индуцируя активацию других компонентов C1, C1r и C1s.

Присутствие анти-C1q аутоантител ассоциировано с различными аутоиммунными и почечными патологиями. При синдроме гипокомплементемического уртикарного васкулита (HUVS) анти-C1q встречаются в 100% случаев и могут служить диагностическим маркером при данной патологии. Эти антитела описаны при системной красной волчанке (SLE) и особенно при волчаночном нефрите.

Они выявляются у до 60% пациентов с SLE [2] и до 80% больных с диффузным пролиферативным волчаночным нефритом [1]. Анти-C1q аутоантитела обнаруживаются также при различных ревматоидных заболеваниях, таких как синдром Фелти, ревматоидные васкулиты или классический узелковый полиартериит [1].

Серийные определения титра анти-C1q антител являются ээффективным инструментом мониторинга иммуносупрессивной терапии при SLE. Определение анти-C1q аутоантител может быть особенно важно в мониторинге активности заболевания при волчаночном нефрите. Самые высокие титры анти-C1q обнаруживают у больных с активным волчаночным нефритом. Показано, что повышение титра анти-C1q обладает предсказательной значимостью для прогноза будущего рецидива волчаночного нефрита [1]. В некоторых случаях у больных с клинически активной волчанкой, при отсутствии анти-ds DNA антител, анти-C1q антитела могут служить дополнительным инструкментом для оценки активности заболевания [2].

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокоочищенным C1q. Антитела к этому антигену, присутствующие в разведенной сыворотке, связываются в лунках. При промывке ячеек удаляются все несвязавшиеся антитела. Пероксидаза хрена (HRP), конъюгированная с антителами к IgG человека иммунологически связывается с аутоантителами пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. При промывке ячеек удаляется весь несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. 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.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов и буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN3) является высоко токсичным веществом и реактивен в чистом виде. В концентрациях, присутствующих в наборе (0.09%), он не опасен. Несмотря на лассификацию как не опасное вещество, рекомендуется соблюдать правила хорошей лабораторной практики (см. 8., 9., 10.).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, тщательно промывайте водопроводную систему большим количеством воды, для разведения ниже активного уровня.
8. При работе с образцами и реагентами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Соблюдайте руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенным C1q. Готов для использования.	1
Комбинированные калибраторы (A-F) с антителами к C1q класса IgG в фосфатно-белковом матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) содержащие: 0, 6.3, 12.5, 25, 50, 100 Ед/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к C1q в фосфатно-белковом матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) (положительный и отрицательный), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат (5x)***. Готов для использования.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ
1. Храните набор при 2-8 °C.
2. Храните микропланшет запечетанным, в сухом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергайте реагенты нагреванию, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования.
5. Разведенный буфер для обраразцов и буфер для промывок стабильны в течений 30 дней при хранении при 2-8 °C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ
Оборудование
- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для обработки результатов

Приготовление реагентов
- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ
1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ
1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2. Не заменяйте компоненты набора реагентами из других лотов.
3. Все материалы должны достичь комнатной температуры (20-28 °C) перед тестированием.
4. Перед началом анализа подготовьте все реагнты и образцы. После начала процедуры анализа должны выполняться без остановок, для получения наиболее достоверных и точных результатов.
5. Выполняйте все шаги анализа только в полном соответствии с данной инструкцией.
6. Всегд используйте свежие разведения образцов.
7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
8. Чтобы избежать перекрестной контаминации меняйте наконечники перед нанесением каждого образца и контроля.
9. Для достижения наиболее точных результатов очень важно тщательно промывать лунки микропланшета и удалить после промывки весь промывочный буфер из лунок.
10. Все инкубации должны проводиться строго в течение указанного времени.
11. Контрольные сыворотки или пулы должны тестироваться при каждой постановке, также, как и образцы, для проверки качества используемых реагентов и выполняемого анализа.
12. Не используйте лунки микропланшета повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации, можно построить калибровочную кривую, для получения полуколичественных результатов для тестируемых образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей (К), калибраторов (С) и предварительно разбавленных проб пациентов (Р) в дублях.

2. Для определения одного класса антител добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов в ячейки.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20 - 28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты.

Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Контроль качества

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1), Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и F полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерений в дублях, и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные средние значения ОП стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах.

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При исследовании нормального диапазона значений антител к C1q с использованием данного теста у здоровых доноров получены следующие значения:

	Антитела к C1q [Ед/мл]
нормальный уровень	<10
повышенный уровень	≥10

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории устанавливать свои собственные нормальные и патологические диапазоны сывороточных антител к C1q. Приведенные выше значения могут использоваться только в качестве ориентировочных.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

Сыворотки с высокой концентрацией антител к C1q были разведены буфером для образцов и проанализированы. Результаты анализа были линейны во всем измеряемом диапазоне.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Воспроизводимость
Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 2 различных опытов по 16 определений каждого из трех образцов:

Анти-C1q		
Внутри серии		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
A1	25,2	3,71
A2	58,6	2,95
A3	75,4	2,88

Анти-C1q		
между сериями		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
A1	22,0	4,76
A2	33,2	2,53
A3	53,3	1,91

Чувствительность
Нижняя граница определения для антител к C1q класса IgG – 0.5 Ед/мл.

Специфичность
Микропланшет покрыт высокоочищенными C1q. Очистка препарата выполняется методом аффинной хроматографии. Данный набор специфичен для аутоантител к C1q.

Калибровка
До тех пор, пока не появится международный референс-стандарт для анти-C1q антител, аналитическая система калибруется в относительных условных единицах.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Тест-система ORGENTEC Anti-C1q может быть использована как часть диагностической процедуры, но сама по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

Интерференции
Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

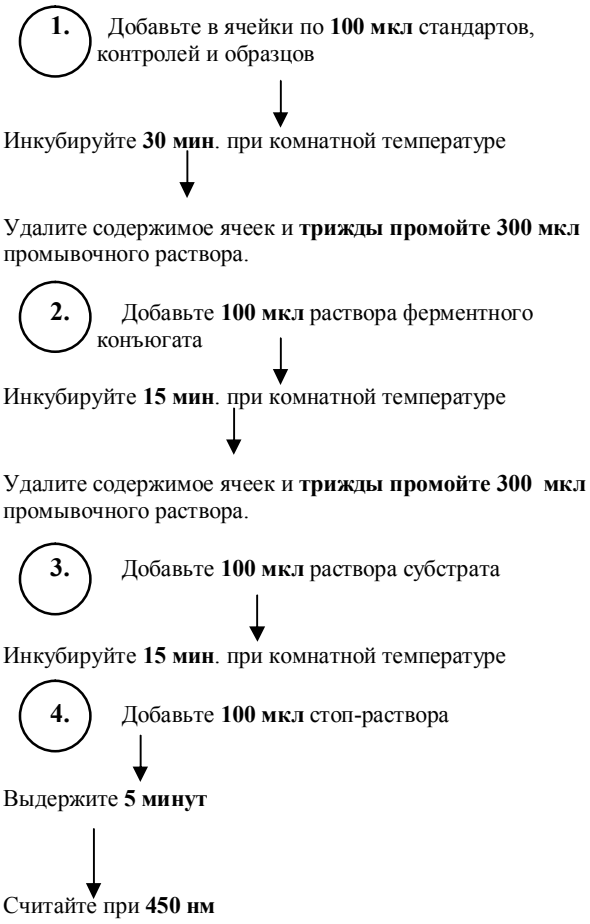
Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

ЛИТЕРАТУРА
См. инструкцию на английском языке.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Антитела к C1q



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-Histone

Кат. Номер ORG 507

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор Anti-Histone предназначен для количественного определения IgG аутоантител к гистонам в сыворотке или плазме человека методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Набор предназначен только для диагностики *in vitro,* и может быть использован при диагностике системной красной волчанки (SLE) или других заболеваний этой группы.

ВВЕДЕНИЕ

ДНК всех эукариотических клеток связана белками. Комплексная структура ДНК и ассоциированных с ней небольших основных белков, называемых гистонами, известна как хроматин. Гистоны составляют около 50 % общей массы эукариотических хромосом. Комплекс ДНК с гистонами может диссоциировать при воздействии на хроматин эукариот солей или растворов кислот. Известны 5 различных типов гистонов. Их обозначают H1, H2A, H2B, H3 и H4. Их молекулярная масса колеблется в диапазоне 11 - 21 кДа. В соответствии с их фундаментальной функцией – организацией хроматина, структура всех гистонов у всех эукариот крайне консервативна. Они содержат большое количество остатков основных аминокислот, которые по-видимому взаимодействуют с отрицательно заряженными группами ДНК. Кроме того, они содержат неполярные аминокислотные остатки, взаимодействия которых между собой также могут быть очень важны.

При окраске методом непрямой иммунофлуоресценции антитела к гистонам обычно продуцируют гомогенное, периферическое (окаймляющее) или стохастическое (точечное) окрашивание ненуклеиновых компонентов ядер клеток. Антитела к димерам гистонов H2A-H2B выявляются примерно в 20 - 50 процентах случаев при спонтанной системной эритематозной волчанке и в 50 - 90 процентах случаев при SLE, индуцированной прокаинамидом. По сравнению с другими аутоантителами антитела к гистонам относительно редко встречаются при спонтанной SLE. Аутоантитела к гистонам не специфичны по отношению к SLE, но обнаруживаются при лекарственной LE и ревматоидном артрите (RA). При лекарственной LE антитела к гистонам выявляются в три раза чаще, чем при SLE.

Большинство антител к гистонам при лекарственной LE имеют временный характер. В основном они исчезают через несколько месяцев после окончания лечения препаратом, индуцировавшим LE.

Определение антител к гистонам может быть показано при:

- лекарственной волчанке (в основном после терапии с использованием прокаинамида, изониазида или гидралазина)
- наличии индуцированных лекарственными препаратами антиядерных антител (ANA), без клинических симптомов SLE.
- спонтанной системной красной волчанке
- ANA-позитивном и серопозитивном ревматоидном артрите
- ANA-позитивной склеродермии

ПРИНЦИП МЕТОДА

Анализ проводится в микропланшете, в лунках которого сорбирована высокоочищенная смесь гистонов. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.
Антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены только для диагностики *in vitro.*
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg и ВИЧ. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN_3) – это вещество, токсичное и активное в чистом виде. Однако концентрации, содержащиеся в поставляемых реагентах, не представляют опасности. Несмотря на то, что они считаются не опасными, производитель рекомендует соблюдать соответствующие предосторожности при работе с реагентами (см. п.п. 8, 9, 10)
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 а в качестве консерванта. При утидизации реагентов, содержащих Proclin 300, промывайте водопроводную систему большим количеством воды, чтобы развети компоненты ниже активных уровней.
8. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых очищенными гистонами (H1, H2A, H2B, H3, H4). Готов к использованию.	1
Стандарты с антителами к гистонам в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN_3 <0,1% (w/w)), содержащие 0, 12.5, 25, 50, 100 и 200 Ед/мл. Готовы к использованию.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к гистонам в сывороточно-буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)), положительный (1) и отрицательный (2), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN_3 <0,1% (w/w)), желтый, концентрат 5х.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (светло-красный) (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), содержащий поликлональные кроличьи антитела к IgG человека, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), концентрат 50х	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C
2. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
4. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.
5. Разведенные буфер для промывок и буфер для образцов стабильны при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный дозатор или диспенсер на 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечения для расчета результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Наносите все образцы на дно лунок
8. Для избежания контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
9. Для достижения наилучших результатов необходима тщательная промывка. После промывки тщательно удалите остатки буфера из лунок.
10. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
11. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.
12. Не используйте повторно стрипы микропланшета.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации можно построить калибровочную кривую и провести полуколичественную оценку образцов сывороток пациентов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое каждого флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8°C 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8°C 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление образцов

Разведите все образцы сывороток пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Например, смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте.

Контроли и стандарты готовы к использованию и не требуют разведения.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разведенных проб сывороток пациентов в дублях.
2. Добавьте в соответствующие ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и предварительно разведенных образцов.
3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20-28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и инкубируйте 5 минут при комнатной температуре.
11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.
Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация: Тест-система ORGENTEC Anti-Histone ELISA может быть использована с открытым автоматизированным оборудованием для ELISA. Процедура теста, приведенная выше, применима как для ручного так и для автоматического исполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1), Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и F полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах. Также возможно использование логарифмических координат и аппроксимации гладким сплайном.

Стандарты (C)									
No	Лунка	ОП 1	ОП 2	Среднее	Конц 1 яч.	Конц 2 яч.	Среднее	Заявл. Конц.	CV %
CTA	A 1 / B 1	0.022	0.021	0.022	0.12	0.09	0.10	0.10	5
CTB	C 1 / D 1	0.252	0.232	0.242	13.0	11.7	12.4	12.5	8
CTC	E 1 / F 1	0.421	0.410	0.415	26.0	25.1	25.5	25.0	3
CTD	G 1 / H 1	0.659	0.652	0.656	49.5	48.7	49.1	50.0	1
CTE	A 2 / B 2	1.016	1.016	1.016	100.9	100.9	100.9	100.0	0
CTF	C 2 / D 2	1.414	1.417	1.416	199.0	200.0	199.5	200.0	0

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерений в дублях, и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные средние значения ОП стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании диапазона нормальных значений антител к гистонам в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

	Антитела IgG к гистонам
Cut-Off:	40 Ед/мл

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к гистонам.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

В экспериментах по разведению сыворотки с высокой концентрацией антителк гистонам были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом. Тестирование показало линейность метода во всем измеряемом диапазоне.

Воспроизводимость

Статистика для коэффициентов вариации (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии, воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	23	4.1
2	52	3.8
3	120	4.6

Между сериями		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	25	5.3
2	54	4.6
3	124	4.9

Чувствительность

Нижняя граница определения для антител к гистонам составляет 1 Ед/мл.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Микропланшет покрыт особочистым препаратом смеси гистонов (H1, H2A, H2B, H3, H4). Тест для определения антител к гистонам выявляет только антитела специфичные к гистонам. Перекрестных реакций с антителами к ДНК не наблюдалось.

КАЛИБРОВКА
Поскольку не существует международно признанного стандарта аутоантител к гистонам, тест-система прокалибрована по Международному Стандарту (WHO) для человеческого антиядерного фактора (гомогенного). MRC 66/233. При использовании данного теста такой препарат определяется с концентрацией 100 Ед/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Тест-система ORGENTEC Anti-Histone ELISA может быть использована как часть диагностической процедуры, но сама по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ
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.

ЛИТЕРАТУРА
См. инструкцию на английском языке.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
Антитела к гистонам

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

→ Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

→ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

→ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

→ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ

→ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

→ Выдержите **5 минут**

→ Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-alpha-Fodrin IgG/IgA

96 тестов

Кат. № ORG 642

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского оригинала. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANTI-FODRIN предназначен для количественного определения аутоантител классов G и A к фодрину в сыворотке или плазме человека. Этот метод предназначен для диагностики *in vitro* синдрома Шегрена.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Альфа-фодрин – внутриклеточный актин-связанный органоспецифический белок цитосклелета. Это димерный белок, состоящий из альфа- и бета-субъединиц. Сеть, образованная актином и фодрином, расположена под плазматической мембраной секреторных клеток и участвует в транспорте секреторных пузырьков к плазматической мембране для последующей секреции.

В процессе апоптоза димер альфа-фодрина расщепляется на продукты массой 120 kDa, в большом количестве встречающиеся в слюнных железах [2, 6]. Этот протеолиз фодрина может быть следствием активации протеаз во время апоптоза [11]. Установлено, что продукт расщепления 120 kDa альфа-фодрина - важнейший аутоантиген в патогенезе органоспецифического аутоиммунного ответа [8].

Клинические исследования показали, что у пациентов с синдромом Шегрена альфа-фодрин вовлечен в стимуляцию Т-клеток периферической крови [2]. Эти результаты предполагают, что рост протеазной активности и стимуляция Т-клеток играют важную роль в протеолизе альфа-фодрина при развитии первичного синдрома Шегрена [7].

Синдром Шегрена – аутоиммунное нарушение, при котором страдают слёзные и слюнные железы (симптом Сикка). Он характеризуется кератоконъюнктивитом и сухостью глаз и ротовой полости. Его выявляют по лимфатической инфильтрации слёзных и слюнных желёз [9]. Этот синдром часто встречается у пациентов с офтальмопатией Грейвса [13].

Диагностические маркеры для синдрома Шегрена - анти-SS-A/Ro и анти-SS-B/La-антитела, направленные против внутриклеточных антигенов [1, 3]. Но было показано, что при ювенильном синдроме Шегрена тест отрицателен и для анти-SS-A и анти-SS-B-антител. Поэтому необходимо определять высоко специфичные для синдрома Шегрена аутоантитела.

Антитела, направленные против альфа-фодрина, были описаны в публикациях 1997 и 1999 гг, и присутствовали у взрослых как с первичным (95 % и 78 %) так и со вторичным синдромом Шегрена (62.5 % и 60 %) [2, 5, 12]. Кроме того, они были обнаружены у детей с синдромом Шегрена [5]. Takahashi и другие описали эти антитела у детей с ревматоидным артритом (JRA; n = 5/9) и с СКВ (n = 5/6) [10].

Во время международного конгресса в 1999 были представлены спорные данные относительно распространенности IgG и IgA-антител, направленных против альфа-фодрина. Более современные данные показывают более высокую распространенность иммуноглобулинов класса IgG [13].

У пациентов с СКВ или с офтальмопатией Грейвса и наличием антител, направленных против альфа-фодрина, не было найдено никакой корреляции с наличием антител, направленных против SS-A или SS-B [5, 13].

Kobayashi и другие обнаружили наличие аутоантител к альфа-фодрину раньше, чем анализ на анти-SS-A или анти-SS-B-антитела стал положительным [4]. Таким образом, авторы делают вывод, что антитела к альфа-фодрину могли бы быть полезным и надежным диагностическим маркером для синдрома Шегрена, особенно в начале болезни [4, 5]. Согласно самым последним работам, обычный скрининг антител, направленных против альфа-фодрина, может быть полезным инструментом в диагностике синдрома Шегрена на ранней стадии.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Настоящий набор использует принцип непрямого твердофазного ИФА - ELISA. Он разработан для количественного определения аутоантител классов G и A к фодрину. Ячейки планшета покрыты человеческим α-фодрином. Набор предназначен для количественного определения антител к α-фодрину классов IgG и IgA.
Планшет может быть разделен на 12 стрипов по 8 ячеек каждый или может быть использован сразу для 96 определений. Каждая ячейка может быть отделена от стрипа (“break-away”).
В ходе анализа происходят связывание присутствующих аутоантител, образование сэндвичевого комплекса и ферментная цветная реакция в следующих фазах реакции:

Фаза 1:
Калибраторы, контроли и предварительно разбавленные пробы сыворотки пациентов вносятся в микроячейки. Любые присутствующие антитела связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. После 30-минутной инкубации ячейки промываются, при этом промывочный раствор удаляет несвязавшиеся компоненты сыворотки.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Фаза 2:
Раствор коньюгата анти-человеческого-IgG или анти-человеческого IgA с пероксидазой хрена добавляется в ячейки для определения аутоантител, связанных с иммобилизованными антигенами. После 15-минутной инкубации избыток ферментного коньюгата удаляется промывочным раствором.

Фаза 3:
Раствор хромогенного субстрата, содержащий ТМБ, добавляется в ячейки. В течение 15-минутной инкубации цвет раствора становится голубым. Развитие окраски останавливается добавлением 1М соляной кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый.
Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG или IgA-антител в образце.
Необходимо считать оптическую плотность при 450 нм. Рекомендуется бихроматический режим с фильтром сравнения 600 - 690 нм.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит раствор фосфорной кислоты. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых человеческим фодрином. Готов к использованию.	1
Комбинированные калибраторы с антителами к фодрину классов IgG и IgA в сывороточно/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие: IgG и IgA: 0; 6.3; 12;5 25; 50, 100 Ед/мл. Готовы к использованию.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к фодрину в сывороточно/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)) Контроль 1: положительный на IgG-антитела Контроль 2: положительный на IgA-антитела Контроль 3: отрицательный на IgG- и IgA-антитела. Готовы к использованию.	3 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3‹0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат (5x)***. Готов к использованию.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, PROCLIN 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgG-IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию. Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, PROCLIN 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgA-IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл 1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (фосфатно-солевой буфер, NaN3‹0,1%(w/w)), ***концентрат.*** Готов к использованию.	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование
- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов
- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Соберите образец цельной крови стандартной венопункцией, избегая гемолиза.

1 Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием
2 Избегайте гемолиза, липемии или микробиологического загрязнения сыворотки
3 Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.
4 Для предотвращения повторных циклов замораживания-оттаивания (это может привести к потере активности антител) следует приготовить аликвоты образцов.
5 Все пробы сыворотки и плазмы должны быть разбавлены 1:100 буфером для образцов. Следовательно, 10 мкл образца могут быть разбавлены 1000 мкл буфера.
6 Использование для анализа инактивированной нагреванием сыворотки не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28^{o}C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре (18-28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного и положительного контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов

Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации и log-log координаты.

Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага.

Anti-Fodrin Orgentec
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При исследовании нормального диапазона значений антител к фодрину с использованием данного теста у здоровых доноров получены следующие значения:

	Антитела к фодрину IgG и IgA [Ед/мл]
Нормальный уровень	< 10
Положительный	> 10

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории устанавливать свои собственные нормальные и патологические диапазоны сывороточных антител к фодрину. Приведенные выше значения могут использоваться только в качестве ориентировочных.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы. Анализ был линеен во всем диапазоне измерения.

Воспроизводимость

Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 6 различных опытов по 24 определения каждого образца:

Анти-фодрин		
Внутри серии		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	15,9	4,0
2	59,0	4,0
3	137,0	2,2

Анти-фодрин		
Между сериями		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	15,7	2,9
2	58,1	1,1
3	144,0	3,4

Чувствительность

Нижняя граница определения для антител к α-фодрину классов IgG и IgA – 1,0 Ед/мл.

Специфичность

Микропланшет покрыт человеческим α-фодрином. Специальная технология нанесения антигенов в ячейки гарантирует нативную иммуногенную структуру α-фодрина после иммобилизации на твердой фазе. Данный набор специфичен для аутоантител к α-фодрину.

Калибровка

До тех пор, пока не появится международный референс-стандарт для антител к α-фодрину, аналитическая система калибруется в относительных условных единицах.

Ограничения метода

Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Отрицательный результат не исключает наличия синдрома Шенгера.

Интерференции

Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bell M, Askari A, Bookman A, Frydrych S, Lamont J, McComb J, Muscoplat C, Slomovic A.
Sjögren´s syndrome: A critical review of clinical management. J Rheumatol 1999; 26:2051-61.
2. Haneji N, Nakamura T, Takio K, Yanagi K, Higashiyama H, Saito I, Noji S, Sugino H, Hayashi Y.
Identification of a-fodrin as a candidate autoantigen in primary Sjögren´s syndrome. Science
1997; 276 :604-7
3. Harley JB, Alexander EL, Bias WB, Fox OF, Provost TT, Reichlin M, Yamagata H, Arnett FC. Anti-Ro
(SS-A) and anti-La (SS-B) in patients with Sjogren´s syndrome. Arthritis Rheum 1986; 29:196-206.
4. Kobayashi I, Kawamura N, Okano M, Shikano T, Mizumoto M, Hayashi Y, Kobayashi K.
Anti-alpha Fodrin autoantibody is an early diagnostic marker for childhood primary
Sjögren´s syndrome. J Rheumatol 2001; 28:363-5.
5. Maeno N, Takei S, Imanaka H, Oda H, Yanagi K, Hayashi Y, Miyata K. Anti-a-Fodrin antibodies in
Sjögren´s syndrome in children. J Rheumatol 2001; 28:860-4.
6. Martin SJ, O´Brien GA, Nishioka WN, McGahon AJ, Mahboubi A, Saido TC, Green DR. Proteolysis of
fodrin (non-erythroid spectrin) during apoptosis. J Biol Chem 1995; 270:6425-8.
7. Saegusa K, Ishimaru N, Yanagi K, Haneji N, Nishino M, Azuma M, Saito I, Hayashi Y. Autoantigen-
specific CD4+CD28low T cell subset prevents autoimmune exocrinopathy in murine Sjögren´s
syndrome. J Immunol 2000; 165:2251-2257.
8. Saegusa K, Ishimaru N, Yanagi K, Arakaki R, Ogawa K, Saito I, Katunuma N, Hayashi Y Cathepsin S
inhibitor prevents autoantigen presentation and autoimmunity. J Clin Invest. 2002 Aug;110(3):
361-9
9. Sjögren H, Bloch K. Keratoconjuntivitis sicca and the Sjögren´s syndrome. Surv Opthalmol 1971;
16:145-59.
10. Takahashi K, Tatsuzawa O, Yanagi K, Hayashi Y, Takahashi H. Alpha-fodrin auto-antibody in Sjögren
syndrome and other auto-immune diseases in childhood. Eur J Pediatr 2001; 160(8):520-1.
11. Vanags DM, Pörn-Ares MI, Coppola S, Burgess DH, Orrenius S. Protease involvement in
fodrin cleavage and phosphatidylserine exposure in apoptosis. J Biol Chem 1996;
271:31075-85
12. Watanabe T, Tsuchida T, Kanda N, Mori K, Hayashi Y, Tamaki K. Anti-a-fodrin antibodies in
Sjögren´s syndrome and lupus erythematosus. Arch Dermatol 1999;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

135:535-9.
13. G. J. Kahaly, W. Berg, Ch. Biller, K. Neutzling, M. Dittmar, H. Bang
Alpha-Fodrin as candidate autoan
tigen in Graves' Ophthalmopathy. Abstract accepted für presentation at
74th Annual Meeting of
the American Thyroid Association, October 10-13, 2002

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Добавить	Контроли
100 µл стандартов в микроячейки	**100 µл** контролей или проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут** и Считать при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-MCV

Кат. № ORG 548

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор Anti-MCV предназначен для количественного определения антител класса IgG к модифицированному цитруллинированному виментину методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) в сыворотке и плазме человека. Метод предназначен только для диагностики *in vitro*, и может быть использован при диагностике ревматоидного артрита.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Ревматоидный артрит (RA) одно из наиболее распространенных аутоиммунных заболеваний. Основной характеристикой RA является воспаление сустава, приводящее к его повреждению и потере функции. Ранняя диагностика RA и немедленное начало соответствующего лечения очень важны для предупреждения полного повреждения сустава. Диагностика RA в первую очередь основывается на клинической манифестации, до настоящего момента серологические исследования были ограничены определением аутоантител к ревматоидному фактору (RF). RF является чувствительным серологическим маркером RA, с умеренной специфичностью, около 70%. Во многих исследованиях было показано, что у RF-негативных пациентов определяются антитела к цитруллинированным аргининовым остаткам в белках филаментов.

Расщепление аргинина до цитруллина это процесс, катализируемый ферментом пептидил-аргинин дезиминазой (peptidylarginine deiminase, PAD), при котором аминокислота аргинин (Arg) преобразуется в цитруллин. В процессе модификации положительно заряженная NH_2 группа отщепляется с присоединением кислорода [4].

Набор ORGENTEC Anti-MCV ELISA обладает высокой чувствительностью и специфичностью к аутоантителам против модифицированного цитруллинированного виментина. Модифицированный цитруллинированный виментин постоянно обнаруживается в синовиальной ткани у пациентов с RA. Недавно были обнаружены выделение и модификация виментина макрофагами в зависимости от провоспалительных сигналов [12]. Титр антител к виментину у пациентов с RA строго коррелирует с показателем активности заболевания. (DAS).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Анализ проводится в микропланшете, в лунках которого сорбирован модифицированный цитруллинированный виментин (MCV). Если антитела к этому антигену присутствуют в разведенных образцах сыворотки, то они связываются с иммобилизованным в микроячейках антигеном. При промывке удаляют не связавшиеся компоненты сыворотки и плазмы. Конъюгат антител к IgG человека с пероксидазой хрена добавляется в ячейки и иммунологически связывается с аутоантителами из образцов сывороток пациентов, связавшихся с иммобилизованными антигенами, в результате чего образуются комплексы конъюгат/антитело/антиген. Избыток конъюгата удаляется при следующей промывке. Раствор хромогенного субстрата, в присутствии связавшегося конъюгата, гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты в качестве стоп-раствора, при этом цвет раствора меняется на желтый. Интенсивность этого окрашивания определяют фотометрически при 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg и ВИЧ. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. Он способен образовывать взрывоопасные соединения при длительном контакте с медью или свинцом. При использовании реагентов, содержащих азид натрия необходимо наличие большого количества воды. Азид натрия может быть токсичен при попадании внутрь организма. В концентрациях, присутствующих в реагентах, он не токсичен. Несмотря на классификацию как не токсичного вещества, мы настоятельно рекомендуем следовать обычной лабораторной практике обращения с опасными веществами (см. 8., 9., 10).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При выливании реагентов, содержащих Proclin 300, необходимо смывать большим количеством воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
8. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9. Не отбирайте образцы ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.
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.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых модифицированным цитруллинированным виментином (MCV). Готов к использованию	1
Комбинированные стандарты с IgG антителами к MCV (A-F) в сывороточно/буферном (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе, содержащие: IgG: 0; 20; 40; 100; 300 и 1000 Ед/мл Готовы к использованию	6 флаконов по 1,5 мл в каждом
Контроли антител к MCV в сывороточно-буферном (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе, положительный (1) и отрицательный (2), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию	2 флакона по 1,5 мл в каждом
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат 5***x	1 флакон 20 мл
Раствор (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Промывочный буфер, (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), ***концентрат 50***x	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C
2. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
4. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.
5. Разведенные буфер для промывок и буфер для образцов стабильны при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Вортекс
- Многоканальные пипетки или дозаторы на 100 мкл
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Лабораторный таймер
- программное обеспечение для анализа данных

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного буфера

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Наносите все образцы на дно лунок
8. Для избежания контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
9. Для достижения наилучших результатов необходима тщательная промывка. После промывки тщательно удалите остатки буфера из лунок.
10. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
11. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.
12. Не используйте повторно стрипы микропланшета.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации можно построить калибровочную кривую и провести полуколичественную оценку образцов сывороток пациентов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое каждого флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8^{o}C 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

охлажденным. Раствор стабилен при 2-8°C 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление образцов
Разведите все образцы сывороток пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Например, смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте.
Контроли и стандарты готовы к использованию и не требуют разведения.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разведенных образцов сывороток пациентов.
2. Добавьте в соответствующие ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и предварительно разведенных образцов в дублях.

	1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*
A	SA	SE	P1	P5		
B	SA	SE	P1	P5		
C	SB	SF	P2	P..		
D	SB	SF	P2	P..		
E	SC	C1	P3			
F	SC	C1	P3			
G	SD	C2	P4			
H	SD	C2	P4			

SA-SF: стандарты от A до F
P1, P2...: образцы сывороток пациентов 1, 2 ...
C1: положительный контроль
C2: отрицательный контроль

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20-28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте каждую лунку 300 мкл** промывочного буфера.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и инкубируйте 5 минут при комнатной температуре.
11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.
Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация: Тест-система ORGENTEC Anti-MCV ELISA может быть использована с открытым автоматизированным оборудованием для ELISA. Процедура теста, приведенная выше, применима как для ручного так и для автоматического исполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1), Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и F полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой зависимости оптической плотности от концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах
Рассчитайте среднюю оптическую плотность для каждого стандарта по результатам измерений в дублях, и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные средние значения ОП стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании диапазона нормальных значений антител к MCV в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

	Анти- MCV IgG [Ед/мл]
норма:	< 20
повышенные значения:	≥ 20

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии для антител к MCV.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
В экспериментах по разведению сыворотки с высокой концентрацией антител были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом на содержание анти-MCV. Тестирование показало линейность метода во всем измеряемом диапазоне.

анти-MCV	образец	разведение	наблюдаемое [Ед/мл]	ожидаемое [Ед/мл]	н/о
IgG	1	1:100	569,3		
		1:200	287,8	284.7	101%
		1:400	149,2	142.3	105%
		1:800	73,9	71.2	104%
IgG	2	1:100	581,5		
		1:200	308,1	290.8	106%
		1:400	162,5	145.4	112%
		1:800	77,7	72.7	107%
IgG	3	1:100	>max		
		1:200	754,7		
		1:400	379,0	377.4	100%

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		1:800	191,4	188.7	101%

Воспроизводимость
Коэффициенты вариаций (CV) были подсчитаны для каждого из трех образцов по результатам 24 определений в одной постановке (для оценки воспроизводимости внутри серии).
Воспроизводимость между сериями юыла рассчитана по результатам 5 различных постановок, в каждой из которых измеряли по 6 реплик для каждого образца:

Внутри серии		
образец No	среднее [ед/мл]	CV [%]
1	17	2.0
2	180	2.3
3	750	2.2

Между сериями		
образец No	среднее [ед/мл]	CV [%]
1	22	2.7
2	117	2.3
3	527	1.9

Чувствительность
Нижняя граница определения для антител к MCV данным методом составляет 1.0 Ед/мл.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Микропланшет покрыт модифицированным цитруллинированным виментином. Данный тест специфичен только по отношению к аутоантителам к модифицированным цитруллинированным виментином.

Калибровка
Так как не существует международного референсного материала для Anti – MCV, система откалибрована в произвольных единицах**.**

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Тест-система ORGENTEC Anti-MCV ELISA может быть использована как часть диагностической процедуры, но сама по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ
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.

ЛИТЕРАТУРА
См. инструкцию на английском языке.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
Антитела к MCV

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Добавьте **100 мкл** раствора субстрата

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

Выдержите **5 минут**

Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-CCP hs (high sensitive)

Кат. № ORG 601

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор Anti-CCP предназначен для высокочувствительного количественного определения антител класса IgG к циклическим цитруллинированным белкам методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) в сыворотке и плазме человека. Метод предназначен только для диагностики *in vitro*, и может быть использован при диагностике ревматоидного артрита.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Ревматоидный артрит (RA) одно из наиболее распространенных аутоиммунных заболеваний. Основной характеристикой RA является воспаление сустава, приводящее к его повреждению и потере функции. Ранняя диагностика RA и немедленное начало соответствующего лечения очень важны для предупреждения полного повреждения сустава. Диагностика RA в первую очередь основывается на клинической манифестации, до настоящего момента серологические исследования были ограничены определением аутоантител к ревматоидному фактору (RF). RF является чувствительным серологическим маркером RA, с умеренной специфичностью, около 70%. Во многих исследованиях было показано, что у RF-негативных пациентов определяются антитела к цитруллинированным аргининовым остаткам в белках филаментов.

Расщепление аргинина до цитруллина это процесс, катализируемый ферментом пептидил-аргинин дезиминазой (peptidylarginine deiminase, PAD), при котором аминокислота аргинин (Arg) преобразуется в цитруллин. В процессе модификации положительно заряженная NH_2 группа отщепляется с присоединением кислорода [4].

Набор ORGENTEC Anti-CCP ELISA обладает высокой чувствительностью и специфичностью к аутоантителам против циклическим цитруллинированным белкам. Циклические цитруллинированные белки постоянно обнаруживаются в синовиальной ткани у пациентов с RA. Недавно были обнаружены выделение и модификация цитруллина макрофагами в зависимости от провоспалительных сигналов [12]. Титр антител к цитруллину у пациентов с RA строго коррелирует с показателем активности заболевания. (DAS).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Анализ проводится в микропланшете, в лунках которого сорбированы циклические цитруллинированные белки (CCP). Если антитела к этому антигену присутствуют в разведенных образцах сыворотки, то они связываются с иммобилизованным в микроячейках антигеном. При промывке удаляют не связавшиеся компоненты сыворотки и плазмы. Конъюгат антител к IgG человека с пероксидазой хрена добавляется в ячейки и иммунологически связывается с аутоантителами из образцов сывороток пациентов, связавшихся с иммобилизованными антигенами, в результате чего образуются комплексы конъюгат/антитело/антиген. Избыток конъюгата удаляется при следующей промывке. Раствор хромогенного субстрата, в присутствии связавшегося конъюгата, гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты в качестве стоп-раствора, при этом цвет раствора меняется на желтый. Интенсивность этого окрашивания определяют фотометрически при 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG в образце.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых циклическими цитруллинированными белками (CCP). Готов к использованию	1
Комбинированные стандарты с IgG антителами к CCP (A-F) в сывороточно/буферном (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе, содержащие: IgG: 0; 20; 40; 100; 300 и 1000 Ед/мл Готовы к использованию	6 флаконов по 1,5 мл в каждом
Контроли антител к CCP в сывороточно-буферном (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе, положительный (1) и отрицательный (2), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию	2 флакона по 1,5 мл в каждом
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат 5***x	1 флакон 20 мл
Раствор (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Промывочный буфер, (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), ***концентрат 50x***	1 флакон 20 мл
Инструкция пользователя	1 диск
Сертификат анализа	1 шт

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Вортекс
- Многоканальные пипетки или дозаторы на 100 мкл
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Лабораторный таймер
- Программное обеспечение для анализа данных
- Пластиковый контейнер для хранения буфера для промывок
- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Наносите все образцы на дно лунок
8. Для избежания контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
9. Для достижения наилучших результатов необходима тщательная промывка. После промывки тщательно удалите остатки буфера из лунок.
10. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
11. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.
12. Не используйте повторно стрипы микропланшета.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации можно построить калибровочную кривую и провести полуколичественную оценку образцов сывороток пациентов.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg и ВИЧ. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. Он способен образовывать взрывоопасные соединения при длительном контакте с медью или свинцом. При использовании реагентов, содержащих азид натрия необходимо наличие большого количества воды. Азид натрия может быть токсичен при попадании внутрь организма. В концентрациях, присутствующих в реагентах, он не токсичен. Несмотря на классификацию как не токсичного вещества, мы настоятельно рекомендуем следовать обычной лабораторной практике обращения с опасными веществами (см. 8., 9., 10).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При выливании реагентов, содержащих Proclin 300, необходимо смывать большим количеством воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
8. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9. Не отбирайте образцы ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

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.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление промывочного буфера

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

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое каждого флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием.

Приготовление образцов

Разведите все образцы сывороток пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Например, смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте.

Контроли и стандарты готовы к использованию и не требуют разведения.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разведенных образцов сывороток пациентов.

2. Добавьте в соответствующие ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и предварительно разведенных образцов в дублях.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1	2	3	4	5	6
A	A	P1				
B	B	P2				
C	C	P3				
D	D					
E	E					
F	F					
G	C+					
H	C-					

A-F: стандарты от A до F
P1, P2...: образцы сывороток пациентов 1, 2 ...
C+: положительный контроль
C-: отрицательный контроль

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20-28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте каждую лунку 300 мкл** промывочного буфера.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и инкубируйте 5 минут при комнатной температуре.
11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.
Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация: Тест-система ORGENTEC Anti-CCP ELISA может быть использована с открытым автоматизированным оборудованием для ELISA. Процедура теста, приведенная выше, применима как для ручного так и для автоматического исполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА
Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1), Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и F полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой зависимости оптической плотности от концентрации в линейно-логарифмических координатах.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Калибровка
Так как не существует международного референсного материала для Anti – CCP, система откалибрована в произвольных единицах**.**

Измеряемый диапазон:
Диапазон измерения данным методом: 0 – 1000 Ед/мл

Ожидаемые значения:
При исследовании диапазона нормальных значений антител к CCP в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

	Анти- CCP IgG [Ед/мл]
норма:	< 20
повышенные значения:	≥ 20

Линейность
В экспериментах по разведению сыворотки с высокой концентрацией антител были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом на содержание анти-CCP. Тестирование показало линейность метода во всем измеряемом диапазоне.

образец	разведение	наблюдаемое [Ед/мл]	ожидаемое [Ед/мл]	н/о, %
1	1:100	1109,2	1109,2	100
	1:200	467,3	550,0	85
	1:400	245,4	275,0	89
	1:800	115,0	137,5	84
	1:1600	57,1	68,9	83
	1:3200	31,4	29,7	106
	1:6400	14,4	14,9	97
	1:12800	7,6	7,4	103
2	1:100	320,4	320,4	100
	1:200	165,0	174,9	94
	1:400	94,8	87,4	108
	1:800	48,4	43,7	111
	1:1600	24,6	21,9	112
3	1:100	122,1	122,1	100
	1:200	61,0	59,3	103
	1:400	31,3	29,,7	105
	1:800	14,5	14,8	98
	1:1600	7,5	7,4	101

Чувствительность

Чувствительность составила 1 Ед/мл.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Воспроизводимость
Коэффициенты вариаций (CV) были подсчитаны для каждого из трех образцов по результатам 24 определений в одной постановке (для оценки воспроизводимости внутри серии).
Воспроизводимость между сериями юыла рассчитана по результатам 5 различных постановок, в каждой из которых измеряли по 6 реплик для каждого образца:

Внутри серии		
образец No	среднее [ед/мл]	CV [%]
1	18,6	7,8
2	83,8	6,0
3	297,5	8,6

Между сериями		
образец No	среднее [ед/мл]	CV [%]
1	26,4	9,9
2	75,9	7,9
3	304,7	9,6

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Тест-система ORGENTEC Anti-CCP ELISA может быть использована как часть диагностической процедуры, но сама по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ
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

Исследуемая популяция	n	n (положительные)	%
Ревматоидный артрит	259	237	91,5
Другие артриты	22	6	27,3
Другие ревматоидные заболевания	37	1	2,7
Здоровые доноры	118	1	0,8

Чувствительность: 91.5%
Специфичность: 95.5%
Общая согласованность: 93.1%

ЛИТЕРАТУРА
См. инструкцию на английском языке.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
Антитела к ССР

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Добавьте **100 мкл** раствора субстрата

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

Выдержите **5 минут**

Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Rheumatoid Factor IgA

96 тестов

Кат. № ORG 522A

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный метод Rheumatoid Factor IgA предназначен для количественного определения IgA ревматоидного фактора в человеческой сыворотке или плазме методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Набор предназначен только для диагностики in vitro с целью диагностики ревматоидного артрита (RA).

ВВЕДЕНИЕ

Присутствие в сыворотке ревматоидного фактора (РФ) класса IgM является диагностическим критерием ревматоидного артрита (согласно перечню диагностических критериев ревматоидного артрита Международной Ассоциации Ревматологии). РФ представляет собой аутоантитела к Fc-фрагменту IgG. В это определение не входят аутоантитела (антиглобулины) к Fab-фрагментам IgG и пепсиновые агглютинаторы, направленные против фрагментов IgG, получаемых при расщеплении молекулы пепсином. Известно, что большинство антиглобулинов в нормальной сыворотке направлены против Fab-фрагментов, в то время как антиглобулины больных ревматоидным артритом специфичны к Fc-фрагментам. РФ обнаруживается в сыворотке 75-80% пациентов с ревматоидным артритом на разных стадиях течения заболевания. В то же время РФ обнаруживается в сыворотке пациентов с инфекционными и аутоиммунными заболеваниями, гиперглобулинемией, В-клеточной лимфопролиферацией, а также у лиц пожилого возраста. Предполагается, что наличие РФ может быть связано с В-клеточной гиперактивностью.

Ревматоидный фактор может быть представлен иммуноглобулинами классов IgG, IgA и IgM, реагирующими только с ксеногенными Fc-фрагментами, и не относящимися к аутоантителам патологической значимости. РФ может реагировать с IgG различных видов, включая аутологичные IgG, иммобилизованные на поверхности клеток. Аутологичное связывание обладает большей аффинностью, чем ксеногенное.

Настоящая тест-система использует в качестве антигена для определения РФ только человеческие Fc-фрагменты IgG.

Признано, что высокие титры РФ ассоциированы с тяжелым течением заболевания, а также наличием внесуставных проявлений и ревматоидных узлов. Выраженность признаков зависит от длительности течения заболевания. Наличие в сыворотке РФ класса IgM может наблюдаться за несколько лет до клинического проявления ревматоидного артрита. Поэтому высокие титры РФ у лиц, не страдающих ревматоидным артритом, ассоциируются с повышенным риском развития заболевания. В первые 2 года течения ревматоидного артрита (ранняя стадия заболевания) уровни сывороточного РФ классов IgG, IgA и IgM не коррелируют с активностью заболевания. Уровни сывороточного РФ классов IgG и IgA в этот период являются прогностическим фактором эрозии сустава.

При выраженном ревматоидном артрите высокий уровень РФ класса IgM коррелирует с наличием патологии суставов и ревматическими узлами, но не с системной активностью заболевания. Наличие РФ классов IgG или IgA у пациентов с длительно текущим ревматоидным артритом может служить хорошим прогностическим индикатором системных проявлений. РФ классов IgG и IgM ассоциированы с внесуставным ревматоидным артритом, например ревматоидным васкулитом и ревматоидными узлами. Наличие иммунных комплексов, содержащих РФ – IgM, связанных с C1q-компонентом комплемента, также ассоциировано с внесуставными проявлениями ревматоидного артрита.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты FC-фрагментом высокоочищенного человеческого IgG. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела к IgA человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgA антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. 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.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов и буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN3) является высоко токсичным веществом и реактивен в чистом виде. В концентрациях, присутствующих в наборе (0.09%), он не опасен. Несмотря на лассификацию как не опасное вещество, рекомендуется соблюдать правила хорошей лабораторной практики (см. 8., 9., 10.).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, тщательно промывайте водопроводную систему большим количеством воды, для разведения ниже активного уровня.
8. При работе с образцами и реагентами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Соблюдайте руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых Fc-фрагментом человеческого IgG	1
Комбинированные калибраторы с антителами класса IgA ревматоидного фактора (A-E) в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)), содержащие: IgA: 0; 15; 50; 150; 500 Ед/мл. Готовы к использованию.	5 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли ревматоидного фактора в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) (положительный и отрицательный), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат (5x).*** Готов к использованию.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgA антитела, меченые пероксидазой хрена, в PBS/BSA матриксе	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор матриксе (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ
1. Храните набор при 2-8 °C.
2. Храните микропланшет запечетанным, в сухом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергайте реагенты нагреванию, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования.
5. Разведенный буфер для обраразцов и буфер для промывок стабильны в течений 30 дней при хранении при 2-8 °C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ
Оборудование
- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для обработки результатов

Приготовление реагентов
- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ
1. Соберите образцы крови обычной венопункцией, избегая гемолиза.
2. Дайте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3. Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Избегайте тестирования гемолизных или липемичных образцов, хотя ни гемолиз, ни липемия не влияют на результаты анализа.
4. Образцы могут храниться при 2-8 °C до 5 дней и при -20 °C до 6 месяцев.
5. Избегайте повторных циклов замораживания/оттаивания. Это можт привести к различным потерям активности аутиантител.
6. Не рекомендуется тестировать образцы, инактивированные нагреванием.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ
1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2. Не заменяйте компоненты набора реагентами из других лотов.
3. Все материалы должны достичь комнатной температуры (20-28 °C) перед тестированием.
4. Перед началом анализа подготовьте все реагнты и образцы. После начала процедуры анализа должны выполняться без остановок, для получения наиболее достоверных и точных результатов.
5. Выполняйте все шаги анализа только в полном соответствии с данной инструкцией.
6. Всегд используйте свежие разведения образцов.
7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8. Чтобы избежать перекрестной контаминации меняйте наконечники перед нанесением каждого образца и контроля.
9. Для достижения наиболее точных результатов очень важно тщательно промывать лунки микропланшета и удалить после промывки весь промывочный буфер из лунок.
10. Все инкубации должны проводиться строго в течение указанного времени.
11. Контрольные сыворотки или пулы должны тестироваться при каждой постановке, также, как и образцы, для проверки качества используемых реагентов и выполняемого анализа.
12. Не используйте лунки микропланшета повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации, можно построить калибровочную кривую, для получения полуколичественных результатов для тестируемых образцов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Готовый буфер для образцов хрниться при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Готовый промывочный буфер храниться при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Подготовка образцов

Разведите все образцы в 100 раз буфером для образцов перед тестированием. Например, внесите 10 мкл образца в 990 мкл буфера для образцов, в полистироловой пробирке. Тщательно перемешайте.
Контроли уже готовы к использованию, их не требуется разводить!

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и предварительно разведенных образцов, в дублях.

	1	2	3	4	5	6
a	CA	CE	P2	P6		
b	CA	CE	P2	P6		
c	CB	K1	P3	P..		
d	CB	K1	P3	P..		
e	CC	K2	P4			
f	CC	K2	P4			
g	CD	P1	P5			
h	CD	P1	P5			

CA-CF: стандарты A - E
P1, P2...: образцы 1, 2 ...
K1: положительный контроль
K2: отрицательный контроль

2. Внесите по **100 мкл** соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов, в дублях, в соответствующие лунки.
3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20 - 28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного буфера.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую лунку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое лунок и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного буфера.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую лунку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую лунку и выдержите 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты.

Рекомендуется бихроматическое считывание с длиной волный сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Метод ORGENTEC Rheumatoid Factor IgA ELISA может быть выполнен с помощью открытого автоматического ИФА анализатора. Процедура метода, описанная выше, пригодна как для автоматического, так и для ручного выполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Анализ данный методом может считаться достоверным только в случае, если оптическая плотность положительного контроля (1) и отрицательного контроля (2), а также стандартов A – F, измеренная при длине волны 450 нм, попадает в диапазон допустимых значений, указанных в сертификате контроля качества, поставляемом в наборе! Если какой-либо из этих критериев не выполняется, результаты считаются не достоверными и тест должен быть выполнен еще раз.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой зависимости оптической плотности от концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого калибратора по результатам измерения в дублях и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов.

Пример расчета результатов

Данные, приведенные ниже, показывают типичные результаты, полученные с помощью данного метода ORGENTEC Rheumatoid Factor IgA ELISA. Эти данные предназначены только для иллюстрации и не должны быть использованы для расчета результатов какой-либо постановки.

стандарты									
No.	лунка	ОП 1	ОП 2	Сред-нее	конц. 1	конц. 2	Сред-нее	Заявленная конц.	CV %
STA	A 1/B 1	0,029	0,031	0,030	0	0	0	0	1
STB	C 1/D 1	0,232	0,214	0,223	16,4	14,9	15,6	15	4
STC	E 1/F 1	0,563	0,536	0,550	50,2	47,2	48,7	50	3
STD	G1/H 1	1,263	1,181	1,222	160,6	143,8	152,2	150	5
STE	A 2/B 2	2,190	2,118	2,154	522,3	474,3	498,4	500	3

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании диапазона нормальных значений антител ревматоидного фактора в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

Ревматоидный фактор IgA	
нормальный уровень	< 20
повышенный уровень	> 20

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к кардиолиину.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

Сыворотки с высокой концентрацией антител ревматоидного фактора IgA были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом.

TTG	№ образца	разведение	**полученное** [Ед/мл]	ожидаемое [Ед/мл]	п/о
IgA	1	1:100	253,0		
		1:200	132,2	126,5	105 %
		1:400	64,4	63,3	102 %
		1:800	32,2	31,6	102 %
		1:1600	15,7	15,8	99 %
		1:3200	7,5	7,9	95 %
IgA	2	1:200	223,8		
		1:400	108,4	111,9	97 %
		1:800	56,3	56,0	101 %
		1:1600	24,9	28,0	89 %
		1:3200	13,8	14,0	99 %

Воспроизводимость

Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	38,4	5,6
2	93,0	5,5
3	327,2	8,1

Между сериями		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	44,5	6,4
2	104,0	4,8
3	185,6	3,8

Чувствительность

Нижняя граница определения для антител ревматоидного фактора была определена 1,0 Ед/мл

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Ячейки планшета покрыты FC-фрагментом высокоочищенного человеческого IgG. Набор специфичен для всех классов ревматоидного фактора.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Данный набор ORGENTEC Rheumatoid Factor IgA ELISA предназначен для диагностических целей. Однако окончательный диагноз не должен базироваться только на результатах одного теста, но должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

На результаты анализа не оказывал гемолиз (до 1000 мг/дл), липемия (до 3 г/дл триглицеридов) или присутствие билирубина (до 40 мг/дл) в сыворотке. Использование различных коагулянтов также не оказывало влияния. Однако, из практических соображений, не рекомендуется использовать сильно гемолизованные или липемичные образцы.

ЛИТЕРАТУРА

Смотри инсрукцию на английском языке.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

↓

Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

↓

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте, используя по 300 мкл** буфера для промывок на лунку

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

↓

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

↓

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте, используя по 300 мкл** буфера для промывок на лунку

.

3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ

↓

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

↓

Выдержите **5 минут**

↓

Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Rheumatoid Factor IgG

96 тестов

Кат. № ORG 522G

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный метод Rheumatoid Factor IgG предназначен для количественного определения IgG ревматоидного фактора в человеческой сыворотке или плазме методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Набор предназначен только для диагностики in vitro с целью диагностики ревматоидного артрита (RA).

ВВЕДЕНИЕ

Присутствие в сыворотке ревматоидного фактора (РФ) класса IgM является диагностическим критерием ревматоидного артрита (согласно перечню диагностических критериев ревматоидного артрита Международной Ассоциации Ревматологии). РФ представляет собой аутоантитела к Fc-фрагменту IgG. В это определение не входят аутоантитела (антиглобулины) к Fab-фрагментам IgG и пепсиновые агглютинаторы, направленные против фрагментов IgG, получаемых при расщеплении молекулы пепсином. Известно, что большинство антиглобулинов в нормальной сыворотке направлены против Fab-фрагментов, в то время как антиглобулины больных ревматоидным артритом специфичны к Fc-фрагментам. РФ обнаруживается в сыворотке 75-80% пациентов с ревматоидным артритом на разных стадиях течения заболевания. В то же время РФ обнаруживается в сыворотке пациентов с инфекционными и аутоиммунными заболеваниями, гиперглобулинемией, В-клеточной лимфопролиферацией, а также у лиц пожилого возраста. Предполагается, что наличие РФ может быть связано с В-клеточной гиперактивностью.

Ревматоидный фактор может быть представлен иммуноглобулинами классов IgG, IgA и IgM, реагирующими только с ксеногенными Fc-фрагментами, и не относящимися к аутоантителам патологической значимости. РФ может реагировать с IgG различных видов, включая аутологичные IgG, иммобилизованные на поверхности клеток. Аутологичное связывание обладает большей аффинностью, чем ксеногенное.

Настоящая тест-система использует в качестве антигена для определения РФ только человеческие Fc-фрагменты IgG.

Признано, что высокие титры РФ ассоциированы с тяжелым течением заболевания, а также наличием внесуставных проявлений и ревматоидных узлов. Выраженность признаков зависит от длительности течения заболевания. Наличие в сыворотке РФ класса IgM может наблюдаться за несколько лет до клинического проявления ревматоидного артрита. Поэтому высокие титры РФ у лиц, не страдающих ревматоидным артритом, ассоциируются с повышенным риском развития заболевания. В первые 2 года течения ревматоидного артрита (ранняя стадия заболевания) уровни сывороточного РФ классов IgG, IgA и IgM не коррелируют с активностью заболевания. Уровни сывороточного РФ классов IgG и IgA в этот период являются прогностическим фактором эрозии сустава.

При выраженном ревматоидном артрите высокий уровень РФ класса IgM коррелирует с наличием патологии суставов и ревматическими узлами, но не с системной активностью заболевания. Наличие РФ классов IgG или IgA у пациентов с длительно текущим ревматоидным артритом может служить хорошим прогностическим индикатором системных проявлений. РФ классов IgG и IgM ассоциированы с внесуставным ревматоидным артритом, например ревматоидным васкулитом и ревматоидными узлами. Наличие иммунных комплексов, содержащих РФ – IgM, связанных с C1q-компонентом комплемента, также ассоциировано с внесуставными проявлениями ревматоидного артрита.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты FC-фрагментом высокоочищенного человеческого IgG. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. 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.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим соляную кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов и буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN3) является высоко токсичным веществом и реактивен в чистом виде. В концентрациях, присутствующих в наборе (0.09%), он не опасен. Несмотря на лассификацию как не опасное вещество, рекомендуется соблюдать правила хорошей лабораторной практики (см. 8., 9., 10.).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, тщательно промывайте водопроводную систему большим количеством воды, для разведения ниже активного уровня.
8. При работе с образцами и реагентами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Соблюдайте руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых Fc-фрагментом человеческого IgG. Готов к использованию.	1
Комбинированные калибраторы с антителами класса IgG ревматоидного фактора (A-E) в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)), содержащие: IgG: 0; 15; 50; 150; 500 Ед/мл. Готовы к использованию.	5 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли ревматоидного фактора в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) (положительный и отрицательный), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат 5x***	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgA антитела, меченые пероксидазой хрена, в PBS/BSA матриксе. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор матриксе (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), ***концентрат 50x***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ
1. Храните набор при 2-8 °C.
2. Храните микропланшет запечетанным, в сухом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергайте реагенты нагреванию, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования.
5. Разведенный буфер для обраразцов и буфер для промывок стабильны в течений 30 дней при хранении при 2-8 °C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ
Оборудование
- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для обработки результатов

Приготовление реагентов
- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ
1. Соберите образцы крови обычной венопункцией, избегая гемолиза.
2. Дайте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3. Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Избегайте тестирования гемолизных или липемичных образцов, хотя ни гемолиз, ни липемия не влияют на результаты анализа.
4. Образцы могут храниться при 2-8 °C до 5 дней и при -20 °C до 6 месяцев.
5. Избегайте повторных циклов замораживания/оттаивания. Это можт привести к различным потерям активности аутиантител.
6. Не рекомендуется тестировать образцы, инактивированные нагреванием.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ
1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2. Не заменяйте компоненты набора реагентами из других лотов.
3. Все материалы должны достичь комнатной температуры (20-28 °C) перед тестированием.
4. Перед началом анализа подготовьте все реагнты и образцы. После начала процедуры анализа должны выполняться без остановок, для получения наиболее достоверных и точных результатов.
5. Выполняйте все шаги анализа только в полном соответствии с данной инструкцией.
6. Всегд используйте свежие разведения образцов.
7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
8. Чтобы избежать перекрестной контаминации меняйте наконечники перед нанесением каждого образца и контроля.
9. Для достижения наиболее точных результатов очень важно тщательно промывать лунки микропланшета и удалить после промывки весь промывочный буфер из лунок.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

10. Все инкубации должны проводиться строго в течение указанного времени.
11. Контрольные сыворотки или пулы должны тестироваться при каждой постановке, также, как и образцы, для проверки качества используемых реагентов и выполняемого анализа.
12. Не используйте лунки микропланшета повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации, можно построить калибровочную кривую, для получения полуколичественных результатов для тестируемых образцов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Готовый буфер для образцов хрниться при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Готовый промывочный буфер храниться при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Подготовка образцов

Разведите все образцы в 100 раз буфером для образцов перед тестированием. Например, внесите 10 мкл образца в 990 мкл буфера для образцов, в полистироловой пробирке. Тщательно перемешайте.

Контроли уже готовы к использованию, их не требуется разводить!

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и предварительно разведенных образцов, в дублях.

	1	2	3	4	5	6
a	CA	CE	P2	P6		
b	CA	CE	P2	P6		
c	CB	K1	P3	P..		
d	CB	K1	P3	P..		
e	CC	K2	P4			
f	CC	K2	P4			
g	CD	P1	P5			
h	CD	P1	P5			

CA-CF: стандарты A - F
P1, P2...: образцы 1, 2 ...
K1: положительный контроль
K2: отрицательный контроль

2. Внесите по **100 мкл** соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов, в дублях, в соответствующие лунки.
3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20 - 28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного буфера.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую лунку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое лунок и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного буфера.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую лунку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую лунку и выдержите 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты.

Рекомендуется бихроматическое считывание с длиной волны сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Метод ORGENTEC Rheumatoid Factor IgG ELISA может быть выполнен с помощью открытого автоматического ИФА анализатора. Процедура метода, описанная выше, пригодна как для автоматического, так и для ручного выполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Анализ данный методом может считаться достоверным только в случае, если оптическая плотность положительного контроля (1) и отрицательного контроля (2), а также стандартов A – E, измеренная при длине волны 450 нм, попадает в диапазон допустимых значений, указанных в сертификате контроля качества, посталяемом в наборе! Если какой-либо из этих критериев не выполняется, результаты считаются не достоверными и тест должен быть выполнен еще раз.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой зависимости оптической плотности от концентрации в линейно-логарифмических координатах.
Рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого калибратора по результатам измерения в дублях и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов.

Пример расчета результатов

Данные, приведенные ниже, показывают типичные результаты, полученные с помощью данного метода Rheumatoid Factor IgG ELISA. Эти данные предназначены только для иллюстрации и не должны быть использованы для расчета результатов какой-либо постановки.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

стандарты									
No.	лунка	ОП 1	ОП 2	Сред-нее	конц. 1	конц. 2	Сред-нее	Заявленная конц.	CV %
STA	A 1/B 1	0,029	0,031	0,030	0	0	0	0	1
STB	C 1/D 1	0,232	0,214	0,223	16,4	14,9	15,6	15	4
STC	E 1/F 1	0,563	0,536	0,550	50,2	47,2	48,7	50	3
STD	G1/H 1	1,263	1,181	1,222	160,6	143,8	152,2	150	5
STE	A 2/B 2	2,190	2,118	2,154	522,3	474,3	498,4	500	5

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании диапазона нормальных значений антител ревматоидного фактора в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

ревматоидный фактор IgG	
нормальный уровень	< 20
повышенный уровень	≥ 20

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к кардиолиину.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

Сыворотки с высокой концентрацией антител ревматоидного фактора класса IgG были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом.

TTG	№ образца	разведение	**полученное** [Ед/мл]	ожидаемое [Ед/мл]	п/о
IgG	1	1:100	205,0		
		1:200	99,5	102,6	97 %
		1:400	50,4	51,3	98 %
		1:800	25,9	25,7	101 %
		1:1600	13,4	12,8	105 %
		1:3200	6,6	6,4	103 %
IgG	2	1:200	192,9		
		1:400	97,7	96,5	101 %
		1:800	44,3	48,2	92 %
		1:1600	21,7	24,1	90 %
		1:3200	10,7	12,1	88 %

Воспроизводимость

Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	14,7	5,1
2	94,5	3,6
3	308,2	4,6

Между сериями		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	15,9	7,1
2	82,5	3,7
3	305,0	2,4

Чувствительность

Нижняя граница определения для антител ревматоидного фактора была определена 1,0 Ед/мл

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Ячейки планшета покрыты FC-фрагментом высокоочищенного человеческого IgG. Набор специфичен для всех классов ревматоидного фактора.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Данный набор Rheumatoid Factor IgG ELISA предназначен для диагностических целей. Однако окончательный диагноз не должен базироваться только на результатах одного теста, но должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

На результаты анализа не оказывал гемолиз (до 1000 мг/дл), липемия (до 3 г/дл триглицеридов) или присутствие билирубина (до 40 мг/дл) в сыворотке. Использование различных коагулянтов также не оказывало влияния. Однако, из практических соображений, не рекомендуется использовать сильно гемолизованные или липемичные образцы.

ЛИТЕРАТУРА

Смотри инсрукцию на английском языке.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

↓

Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

↓

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте, используя по 300 мкл** буфера для промывок на лунку

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

↓

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

↓

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте, используя по 300 мкл** буфера для промывок на лунку

3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ

↓

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

↓

Выдержите **5 минут**

↓

Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

ORGENTEC

CE

522M_3

ORG 522M Rheumatoid Factor IgM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Ревматоидный фактор IgM - это тест-система ELISA для количественного измерения ревматоидного фактора класса IgM в образцах сыворотки или плазмы человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики.
Тест используется в качестве вспомогательного средства при дифференциальной диагностике ревматоидного артрита (РА), а наличие ревматоидных факторов (РФ) является неотъемлемой частью текущих критериев ACR (Американский колледж радиологии) для классификации РА. При установленном РА высокие титры сывороточных IgG и особенно IgM РФ указывают на плохой прогноз. Наличие либо IgG, либо IgA РФ у пациентов с длительно протекающим РА может быть прогностическим показателем системных проявлений. Оценка результатов теста всегда должна учитывать все клинические и лабораторные данные.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
522M_3	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR A	Калибратор
CALIBRATOR B	Калибратор
CALIBRATOR C	Калибратор
CALIBRATOR D	Калибратор
CALIBRATOR E	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE	Ферментный конъюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Fc-фрагменты высокоочищенного иммуноглобулина G человека абсорбированы на поверхности микропланшетных лунок.
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами: Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

CONTENTS OF THE KIT

ORG 522M	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Код продукта на модуле: RF
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 0 МЕ/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 15 МЕ/мл, содержащий ревматоидный фактор в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 50 МЕ/мл, содержащий ревматоидный фактор в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA,детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 150 МЕ/мл, содержащий ревматоидный фактор в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 500 МЕ/мл, содержащий ревматоидный фактор в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 ml	Контроль положительный, содержащий ревматоидный фактор в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий ревматоидный фактор в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Дилюент P, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий антитела IgM против человека, меченный HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм;

дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и высушенным в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления. Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.
- Разбавленный Промывочный буфер и Буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании

могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и

различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.
Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

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

P1, ... Проба пациента A-E Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.

Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

КАЛИБРОВКА

Система анализа калибруется по международному эталонному препарату 1st British Standard Preparation 64/2 для определения Ревматоидного Фактора IgM в количестве 100 МЕ/мл.

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет 0 - 500 IU/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off 20 IU/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный: < 20 IU/ml
Положительный: ≥ 20 IU/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый IU/ml	Ожидаемый IU/ml	H/O [%]
1	1:100	482.7	431.7	112
.	1:200	218.0	215.9	101
.	1:400	108.0	107.9	100
.	1:800	54.5	54.0	101
.	1:1600	26.7	27.0	99
.	1:3200	13.4	13.5	99
2	1:100	549.3	502.7	109
.	1:200	245.4	251.4	98
.	1:400	125.2	125.7	100
.	1:800	61.1	62.8	97
.	1:1600	32.4	31.4	103
.	1:3200	15.6	15.7	99
3	1:100	220.5	221.5	100
.	1:200	110.4	110.7	100
.	1:400	55.6	55.4	100
.	1:800	27.3	27.7	99
.	1:1600	13.9	13.8	101
.	1:3200	6.7	6.9	97

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: 1 IU/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.

Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ		
Проба	Значение IU/ml	CV %
1	17.1	4.3
2	59.7	4.6
3	148.0	4.3

Анализ между сериями		
Проба	Значение IU/ml	CV %
1	24.5	8.2
2	59.4	5.9
3	123.0	8.1

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследование популяции	n	n Поз	%
ревматоидного артрита	302	276	91.4
Нормальных сывороток человека	169	11	6.5

		Клинический диагноз		
		Поз	Нег	
ORG 522M	Поз	276	11	
	Нег	26	158	
		302	169	471
Чувствительность:		91.4 %		
Специфичность:		93.5 %		
Общая достоверность:		92.1 %		

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально. Приведенные выше патологические и нормальные референсные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Arinbjarnarson S., Jonsson T., Steinsson K. et al. IgA rheumatoid factor correlates with changes in B and T lymphocyte subsets and disease manifestations in rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 269-274.
2. Borretzen M., Mellbye O. J., Thompson K. M., Natvig J. B. Rheumatoid Factors. In: Peter J. B., Shoenfeld Y. eds. Autoantibodies. 1 ed. Amsterdam: Elsevier, 1996: 706-715.
3. Brown P. B., Nardella F. A., Mannik M. Human complement activation by self-associated IgG rheumatoid factors. Arthritis Rheum. 1982; 25: 1101-1107.
4. Ernst E., Espersen G. T., Andersen M. V. Grunnet N. RF-classes (IgM, IgG, IgA) in a group of highly active RA-patients in relation to disease activity and treatment. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 250-255.
5. Espersen G. T. Ernst E. Vestergaard M. Grunnet N. ELISA estimations of rheumatoid factor IgM, IgA, and IgG in sera from RA patients with high disease activity. DTT treatment studies. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 40-45.
6. Houssien D. A., Jonsson T., Davies E., Scott D .L. Clinical significance of IgA rheumatoid factor subclasses in rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 2119-2122.
7. Jonsson T., Arinbjarnarson S., Thorsteinsson J. et al. Raised IgA rheumatoid factor (RF) but not IgM RF or IgG RF is associated with extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. Scand. J. Rheumatol. 1995;24: 372 -375.
8. Kleveland G, Egeland T, Lea T. Quantitation of rheumatoid factors (RF) of IgM, IgA and IgG isotypes by a simple and sensitive ELISA. Discrimination between false and true IgG-RF. Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 15 -24.
9. Mogk M., Weise I., Welcker M., Oppermann M., Helmke K. Bedeutung der Rheu-mafaktor-Immunglobulinklassen IgG, IgA und IgM in der Diagnostik rheumatologischer und immunologischer Erkrankungen. Clin. Lab. 1995; 41: 885-891.
10. Paimela L.,Palosuo T., Leirisalo-Repo M., Helve T., Aho K. Prognostic value of quantitative measurement of rheumatoid factor in early rheumatoid arthritis. Br. J. Rheumatol. 1995; 34: 1146-1150.
11. Pope R. M. Rheumatoid arthritis: pathogenesis and early recognition. Am. J. Med. 1996; 100: 3S-9S.
12. Scutellari P. N., Orzincolo C. Rheumatoid arthritis: sequences. Eur. J. Radiol. 1998; 27 Suppl. 1: S31-S38
13. Swedler W., Wallman J., Froelich C. J., Teodorescu M. Routine measurement of IgM, IgG, and IgA rheumatoid factors: high sensitivity, specificity, and predictive value for rheumatoid arthritis. J. Rheumatol. 1997; 24: 1037-1044.
14. Winska W. H., Thompson K., Young A., Corbett M., Shipley M., Hay F. IgA and IgM rheumatoid factors as markers of later erosive changes in rheumatoid arthritis (RA). Scand. J. Rheumatol. Suppl. 1988; 75: 238-243.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль

Прежняя версия: *ORG 522M_IFU_EN_QM113155_2013-12-16_1.2* Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Rheumatoid Factor Screen

96 тестов

Кат. № ORG 522S

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный метод Rheumatoid Factor Screen предназначен для количественного определения IgG, IgA и IgM ревматоидного фактора в человеческой сыворотке или плазме методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Набор предназначен только для диагностики in vitro с целью диагностики ревматоидного артрита (RA).

ВВЕДЕНИЕ

Присутствие в сыворотке ревматоидного фактора (РФ) класса IgM является диагностическим критерием ревматоидного артрита (согласно перечню диагностических критериев ревматоидного артрита Международной Ассоциации Ревматологии). РФ представляет собой аутоантитела к Fc-фрагменту IgG. В это определение не входят аутоантитела (антиглобулины) к Fab-фрагментам IgG и пепсиновые агглютинаторы, направленные против фрагментов IgG, получаемых при расщеплении молекулы пепсином. Известно, что большинство антиглобулинов в нормальной сыворотке направлены против Fab-фрагментов, в то время как антиглобулины больных ревматоидным артритом специфичны к Fc-фрагментам. РФ обнаруживается в сыворотке 75-80% пациентов с ревматоидным артритом на разных стадиях течения заболевания. В то же время РФ обнаруживается в сыворотке пациентов с инфекционными и аутоиммунными заболеваниями, гиперглобулинемией, В-клеточной лимфопролиферацией, а также у лиц пожилого возраста. Предполагается, что наличие РФ может быть связано с В-клеточной гиперактивностью. Ревматоидный фактор может быть представлен иммуноглобулинами классов IgG, IgA и IgM, реагирующими только с ксеногенными Fc-фрагментами, и не относящимися к аутоантителам патологической значимости. РФ может реагировать с IgG различных видов, включая аутологичные IgG, иммобилизованные на поверхности клеток. Аутологичное связывание обладает большей аффинностью, чем ксеногенное.

Настоящая тест-система использует в качестве антигена для определения РФ только человеческие Fc-фрагменты IgG.

Признано, что высокие титры РФ ассоциированы с тяжелым течением заболевания, а также наличием внесуставных проявлений и ревматоидных узлов. Выраженность признаков зависит от длительности течения заболевания. Наличие в сыворотке РФ класса IgM может наблюдаться за несколько лет до клинического проявления ревматоидного артрита. Поэтому высокие титры РФ у лиц, не страдающих ревматоидным артритом, ассоциируются с повышенным риском развития заболевания. В первые 2 года течения ревматоидного артрита (ранняя стадия заболевания) уровни сывороточного РФ классов IgG, IgA и IgM не коррелируют с активностью заболевания. Уровни сывороточного РФ классов IgG и IgA в этот период являются прогностическим фактором эрозии сустава.

При выраженном ревматоидном артрите высокий уровень РФ класса IgM коррелирует с наличием патологии суставов и ревматическими узлами, но не с системной активностью заболевания. Наличие РФ классов IgG или IgA у пациентов с длительно текущим ревматоидным артритом может служить хорошим прогностическим индикатором системных проявлений. РФ классов IgG и IgM ассоциированы с внесуставным ревматоидным артритом, например ревматоидным васкулитом и ревматоидными узлами. Наличие иммунных комплексов, содержащих РФ – IgM, связанных с C1q-компонентом комплемента, также ассоциировано с внесуставными проявлениями ревматоидного артрита.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты FC-фрагментом высокоочищенного человеческого IgG. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела к IgG, IgA и IgM человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG, IgA и IgM антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. 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.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим соляную кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов и буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN3) является высоко токсичным веществом и реактивен в чистом виде. В концентрациях, присутствующих в наборе (0.09%), он не опасен. Несмотря на лассификацию как не опасное вещество, рекомендуется соблюдать правила хорошей лабораторной практики (см. 8., 9., 10.).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, тщательно промывайте водопроводную систему большим количеством воды, для разведения ниже активного уровня.
8. При работе с образцами и реагентами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Соблюдайте руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых Fc-фрагментом человеческого IgG.	1
Комбинированные калибраторы с антителами класса IgG, IgA и IgM ревматоидного фактора (A-E) в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)), содержащие: 0; 15; 50; 150; 500 Ед/мл. Готовы к использованию.	5 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли ревматоидного фактора в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) (положительный и отрицательный), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат (5x).*** Готов к использованию.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgA антитела, меченые пероксидазой хрена, в PBS/BSA матриксе	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор матриксе (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Храните набор при 2-8 °C.
2. Храните микропланшет запечетанным, в сухом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергайте реагенты нагреванию, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования.
5. Разведенный буфер для обраразцов и буфер для промывок стабильны в течений 30 дней при хранении при 2-8 °C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для обработки результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови обычной венопункцией, избегая гемолиза.
2. Дайте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3. Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Избегайте тестирования гемолизных или липемичных образцов, хотя ни гемолиз, ни липемия не влияют на результаты анализа.
4. Образцы могут храниться при 2-8 °C до 5 дней и при -20 °C до 6 месяцев.
5. Избегайте повторных циклов замораживания/оттаивания. Это можт привести к различным потерям активности аутиантител.
6. Не рекомендуется тестировать образцы, инактивированные нагреванием.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2. Не заменяйте компоненты набора реагентами из других лотов.
3. Все материалы должны достичь комнатной температуры (20-28 °C) перед тестированием.
4. Перед началом анализа подготовьте все реагнты и образцы. После начала процедуры анализа должны выполняться без остановок, для получения наиболее достоверных и точных результатов.
5. Выполняйте все шаги анализа только в полном соответствии с данной инструкцией.
6. Всегд используйте свежие разведения образцов.
7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
8. Чтобы избежать перекрестной контаминации меняйте наконечники перед нанесением каждого образца и контроля.
9. Для достижения наиболее точных результатов очень важно тщательно промывать лунки микропланшета и

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

удалить после промывки весь промывочный буфер из лунок.
10. Все инкубации должны проводиться строго в течение указанного времени.
11. Контрольные сыворотки или пулы должны тестироваться при каждой постановке, также, как и образцы, для проверки качества используемых реагентов и выполняемого анализа.
12. Не используйте лунки микропланшета повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации, можно построить калибровочную кривую, для получения полуколичественных результатов для тестируемых образцов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Готовый буфер для образцов хрниться при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Готовый промывочный буфер храниться при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Подготовка образцов

Разведите все образцы в 100 раз буфером для образцов перед тестированием. Например, внесите 10 мкл образца в 990 мкл буфера для образцов, в полистироловой пробирке. Тщательно перемешайте.

Контроли уже готовы к использованию, их не требуется разводить!

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и предварительно разведенных образцов, в дублях.

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
a	CA	CE	P2	P6		
b	CA	CE	P2	P6		
c	CB	K1	P3	P..		
d	CB	K1	P3	P..		
e	CC	K2	P4			
f	CC	K2	P4			
g	CD	P1	P5			
h	CD	P1	P5			

CA-CF: стандарты A - E
P1, P2...: образцы 1, 2 ...
K1: положительный контроль
K2: отрицательный контроль

2. Внесите по **100 мкл** соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов, в дублях, в соответствующие лунки.
3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20 - 28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного буфера.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую лунку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое лунок и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного буфера.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую лунку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую лунку и выдержите 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты.

Рекомендуется бихроматическое считывание с длиной волный сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Метод ORGENTEC Rheumatoid Factor Screen ELISA может быть выполнен с помощью открытого автоматического ИФА анализатора. Процедура метода, описанная выше, пригодна как для автоматического, так и для ручного выполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Анализ данный методом может считаться достоверным только в случае, если оптическая плотность положительного контроля (1) и отрицательного контроля (2), а также стандартов A – E, измеренная при длине волны 450 нм, попадает в диапазон допустимых значений, указанных в сертификате контроля качества, посталяемом в наборе! Если какой-либо из этих критериев не выполняется, результаты считаются не достоверными и тест должен быть выполнен еще раз.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой зависимости оптической плотности от концентрации в линейно-логарифмических координатах.
Рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого калибратора по результатам измерения в дублях и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов.

Пример расчета результатов

Данные, приведенные ниже, показывают типичные результаты, полученные с помощью данного метода Rheumatoid Factor Screen ELISA. Эти данные предназначены только для иллюстрации и не должны быть использованы для расчета результатов какой-либо постановки.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Стандарты									
No.	лунка	ОП 1	ОП 2	Сред-нее	конц. 1	конц. 2	Сред-нее	Заявленная конц.	CV %
STA	A 1/B 1	0,029	0,031	0,030	0	0	0	0	1
STB	C 1/D 1	0,232	0,214	0,223	16,4	14,9	15,6	15	4
STC	E 1/F 1	0,563	0,536	0,550	50,2	47,2	48,7	50	3
STD	G1/H 1	1,263	1,181	1,222	160,6	143,8	152,2	150	5

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании диапазона нормальных значений антител ревматоидного фактора в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

ревматоидный фактор Screen (Ед/мл)	
нормальный уровень	< 25
повышенный уровень	> 25

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к кардиолиину.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

Сыворотки с высокой концентрацией антител ревматоидного фактора класса IgG, IgA и IgM были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом.

ревматоидный фактор	№ образца	разведение	**полученное** [Ед/мл]	ожидаемое [Ед/мл]	п/о
Скрин	1	1:100	1147,4		
		1:200	574,1	573,7	100 %
		1:400	274,0	286,9	96 %
		1:800	127,7	143,4	89 %
		1:1600	63,2	71,7	88 %
		1:3200	25,6	35,9	71 %
Скрин	2	1:100	693,0		
		1:200	367,2	346,5	106 %
		1:400	177,1	173,3	102 %
		1:800	81,1	86,6	94 %
		1:1600	39,3	43,3	91 %
		1:3200	17,8	21,7	82 %

Воспроизводимость

Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	80	4,0
2	115	3,2
3	400	2,8

Между сериями		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	85	3,1
2	125	4,8
3	410	5,5

Чувствительность

Нижняя граница определения для антител ревматоидного фактора была определена 1,0 Ед/мл

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Ячейки планшета покрыты FC-фрагментом высокоочищенного человеческого IgG. Набор специфичен для всех классов ревматоидного фактора.

КАЛИБРОВКА

Тест-система прокалибрована по международно признанному стандарту сыворотки от 1 st British Standart Preparation 64/2, поскольку не существует другого международного стандарта.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Данный набор Rheumatoid Factor Screen ELISA предназначен для диагностических целей. Однако окончательный диагноз не должен базироваться только на результатах одного теста, но должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

На результаты анализа не оказывал гемолиз (до 1000 мг/дл), липемия (до 3 г/дл триглицеридов) или присутствие билирубина (до 40 мг/дл) в сыворотке. Использование различных коагулянтов также не оказывало влияния. Однако, из практических соображений, не рекомендуется использовать сильно гемолизованные или липемичные образцы.

ЛИТЕРАТУРА

Смотри инсрукцию на английском языке.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

↓

Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

↓

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте, используя по 300 мкл** буфера для промывок на лунку

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

↓

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

↓

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте, используя по 300 мкл** буфера для промывок на лунку

3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ

↓

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

↓

Выдержите **5 минут**

↓

Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-Sm

Кат. Номер ORG 510

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный метод Anti-Sm предназначен для количественного определения IgG антител против Sm в человеческой сыворотке или плазме методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Набор предназначен только для диагностики in vitro с целью диагностики системной красной волчанки.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Ревматоидные аутоиммунные заболевания часто ассоциированы с присутствием аутоантител к различным ядерным или цитоплазматическим антигенам. Эти так называемые анти-ядерные антигены (ANA) могут быть разделены на три группы:

1. истинные антиядерные антигены (ANA): dsDNA, ssDNA, гистоны, ядерные RNA и DNP
2. экстрагируемые ядерные антигены: Sm (Smith), n-RNP, Scl 70 и PM-1
3. цитоплазматические антигены: SS-A (Ro)*, SS-B (La)* и Jo-1; SS-A (Ro) и SS-B (La) ко-локализованы в цитоплазме и ядре.

У пациентов с синдромом Шегрена часто встречается комбинация антител к SS-A и SS-B. Из-за строгой ассоциации SS-A и SS-B антител с HLA-DR3 и DR2 фенотипами было высказано предположение о генетической предрасположенности. Анти-SS-A белок проходит через плаценту и может служить причиной развития системной красной волчанки (SLE) плода. Иммунореактивные белки могут выявляться в различных комбинациях, и также быть связаны с «хозяйскими белками» вирусного происхождения.

Они индуцируют синтез поликлональных аутоантител IgG, IgM и IgA классов.

Связь с вирусной инфекцией (вирусом Эпштейн-Барра, EBV Eppstein-Barr-Virus) была указана главным образом для смешанных соединительнотканных заболеваний.

Каждый класс иммуноглобулинов проявляет специфический тип иммунфлуоресцентного окрашивания. В основном титр, получаемый иммунофлюоресцентным методом, корреллирует с количеством IgG-антител, но концентрации могут широко варьировать в пределах каждого титра. Количество антител IgG-класса в значительной степени корреллирует с активностью заболевания. Это делает их наиболее пригодных объектом для определения иммунофлюоресцентным (IF) методом с использованием Hep2 клеток. IF с использованием *Crithidia lucilliae* иногда дает отклоняющиеся результаты. На сегодняшний день наиболее изученными иммунореактивными антигенами является двухцепочечная ДНК (dsDNA), одноцепочечная ДНК (ssDNA), Sm (Smith), sn-RNP (малые ядерные рибонуклеопротеидные частицы), комплекс RNP/Sm, стабилизированный рибонукленовой кислотой, также как и SS-A (Ro) и SS-B (La). Антиген Scl 70, белок молекулярной массой 70 кД, ассоциирован со склеродермой. При ревматоидных аутоиммуннных заболеваниях могут выявляться различные профили аутоантител к этим антигенам. В высоком проценте случаев они соотносятся с активной и неактивной формами системной красной волчанки, смешанными соединительнотканными заболеваниями, (синдром Шарпа), ревматоидным артритом, синдромом Шегрена, склеродермией, светочувствительным дерматитом и лекарственной волчанкой. У пациентов обычно выявляют антитела к dsDNA. У тех пациентов, у которых отсутствуют такие антитела, часто одновременно присутствуют антитела к ssDNA, SS-A и SS-B. Наблюдается строгая корреляция между концентрацией антител и тяжестью заболевания, при этом более высокая концентрация антител соответствует активной фазе заболевания. Следовательно, количественные определения более информативны, чем простое определение титра иммунофлуоресцентным методом. Измерение антител к ssDNA позволяет получить дополнительную информацию о специфичности и активности антител. В отличие от пациентов с хроническими воспалительными процессами, антитела к ssDNA не выявляются у здоровых лиц. Большинство этих параметров наблюдаются в различных комбинациях и не являются специфичными по отношению к какому-либо одному заболеванию. Сочетание различных антител и их концентраций в совокупности с общей клинической картиной, наблюдаемой у пациента, может быть полезным инструментом при оценке ревматоидных аутоиммунных заболеваний. Данные, приведенные ниже, дают краткую информацию о структуре аутоиммунных заболеваний и выявляемых антителах. Эта информация не предназначена для использования в качестве диагностической схемы или программы или шаблона действий, необходимых для постановки диагноза.

Заболевание/ значения в %	Антитела к								
	dsDNA	ssDNA	гисто-нам	SS-A (Ro)	SS-B (La)	Sm	RNP/ Sm	Scl70	Jo-1
Системная красная волчанка (SLE)	> 90	> 90	30-50	10-30	30-50	10-30	10-30		
Лекарственная волчанка (LE)		30-50	50-90						
Синдром Шарпа, смешанные заболевания соединительной ткани	10-30	10-30					> 90		
Ревматоидный артрит		30-50	30-50	10-30					
Синдром Шегрена	10-30	10-30		> 90	> 90				
Склеродермия	10-30	10-30		10-30				> 90	
Светочувст-вительный дерматит, дерматомиозит	10-30	10-30							50-90

ПРИНЦИП МЕТОДА

Настоящий набор использует принцип непрямого твердофазного ИФА - ELISA. Он предназначен для количественного определения класса IgG аутоантител к экстрагируемым ядерным антигенам Sm . Анализ проводится в микропланшете, покрытом Sm. Планшет может быть разделен на 12 стрипов по 8 ячеек каждый или может быть использован сразу для 96 определений.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Каждая лунка может быть отделена от стрипа («ломающиеся»). Лунки микропланшета окрашены в специфический цвет, соответствующий каждому ENA антигену:

метод	анти-SS-A	анти-SS-B	анти-Sm	анти-RNP/Sm	anti-Scl 70	anti-Jo-1
Цвето-вой код	красный	голубой	желтый	зеленый	розовый	черный

В ходе трех фаз анализа происходят: связывание присутствующих аутоантител, образование сэндвичего комплекса и ферментная цветная реакция:

Фаза 1:

Стандарты, контроли и предварительно разбавленные пробы сыворотки пациентов вносятся в микроячейки. Присутствующие антитела связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. После 30-минутной инкубации ячейки промываются, при этом промывочный раствор удаляет несвязавшиеся компоненты сыворотки.

Фаза 2:

Раствор конъюгата анти-человеческого-IgG с пероксидазой хрена добавляется в ячейки для определения аутоантител, связанных с иммобилизованными антигенами. После 15-минутной инкубации избыток ферментного конъюгата удаляется промывочным раствором.

Фаза 3:

Раствор хромогенного субстрата, содержащий ТМБ, добавляется в ячейки. В течение 15-минутной инкубации цвет раствора становится голубым. Развитие окраски останавливается добавлением 1М соляной кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG в образце. Строится график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации, и концентрации в неизвестных образцах экстраполируются из него.

Требуется считать оптическую плотность при 450 нм. Рекомендуется бихроматический режим с фильтром сравнения 600 - 690 нм.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*

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.

Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C в их оригинальной упаковке.

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.

Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры перед использованием и хорошо перемешайте их.

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.

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 мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.

Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`- тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.

Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.

Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых очищенными Sm	1
Стандарты с анти-Sm антителами в PBS/BSA матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)), содержащие 0, 12.5, 25, 50, 100 и 200 Ед/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли анти-Sm антител в сывороточно-буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)), (положи-тельный и отрицательный), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат (5x)***	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG-IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Храните набор при 2-8 °C.
2. Храните микропланшет запечетанным, в сухом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергайте реагенты нагреванию, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования.
5. Разведенный буфер для обраразцов и буфер для промывок стабильны в течений 30 дней при хранении при 2-8 °C.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для обработки результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови обычной венопункцией, избегая гемолиза.
2. Дайте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3. Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Избегайте тестирования гемолизных или липемичных образцов, хотя ни гемолиз, ни липемия не влияют на результаты анализа.
4. Образцы могут храниться при 2-8 °C до 5 дней и при -20 °C до 6 месяцев.
5. Избегайте повторных циклов замораживания/оттаивания. Это мож привести к различным потерям активности аутиантител.
6. Не рекомендуется тестировать образцы, инактивированные нагреванием.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2. Не заменяйте компоненты набора реагентами из других лотов.
3. Все материалы должны достичь комнатной температуры (20-28 °C) перед тестированием.
4. Перед началом анализа подготовьте все реагнты и образцы. После начала процедуры анализа должны выполняться без остановок, для получения наиболее достоверных и точных результатов.
5. Выполняйте все шаги анализа только в полном соответствии с данной инструкцией.
6. Всегд используйте свежие разведения образцов.
7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
8. Чтобы избежать перекрестной контаминации меняйте наконечники перед нанесением каждого образца и контроля.
9. Для достижения наиболее точных результатов очень важно тщательно промывать лунки микропланшета и удалить после промывки весь промывочный буфер из лунок.
10. Все инкубации должны проводиться строго в течение указанного времени.
11. Контрольные сыворотки или пулы должны тестироваться при каждой постановке, также, как и образцы, для проверки качества используемых реагентов и выполняемого анализа.
12. Не используйте лунки микропланшета повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации, можно построить калибровочную кривую, для получения полуколичественных результатов для тестируемых образцов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Готовый буфер для образцов хрниться при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Готовый промывочный буфер храниться при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Подготовка образцов

Разведите все образцы в 100 раз буфером для образцов перед тестированием. Например, внесите 10 мкл образца в 990 мкл буфера для образцов, в полистироловой пробирке. Тщательно перемешайте.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцы сывороток пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов сывороток пациентов.

3. Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре (20-28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут при комнатной температуре.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Метод ORGENTEC Rheumatoid Factor Screen ELISA может быть выполнен с помощью открытого автоматического ИФА анализатора. Процедура метода, описанная выше, пригодна как для автоматического, так и для ручного выполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Анализ данный методом может считаться достоверным только в случае, если оптическая плотность положительного контроля (1) и отрицательного контроля (2), а также стандартов A – F, измеренная при длине волны 450 нм, попадает в диапазон допустимых значений, указанных в сертификате контроля качества, посталяемом в наборе! Если какой-либо из этих критериев не выполняется, результаты считаются не достоверными и тест должен быть выполнен еще раз.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой зависимости оптической плотности от концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого калибратора по результатам измерения в дублях и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов.

Пример расчета результатов

Данные, приведенные ниже, показывают типичные результаты, полученные с помощью данного метода Anti-Sm ELISA. Эти данные предназначены только для иллюстрации и не должны быть использованы для расчета результатов какой-либо постановки.

Стандарты									
No.	лунка	ОП 1	ОП 2	Сред-нее	конц. 1	конц. 2	Сред-нее	Заявленная конц.	CV %
STA	A 1/B 1	0.032	0.033	0.033	0.1	0.1	0.1	0	3
STB	C 1/D 1	0.313	0.305	0.309	12	12	12	12	3
STC	E 1/F 1	0.569	0.556	0.563	25	23	25	25	2
STD	G1/H 1	0.948	0.940	0.944	51	50	51	50	1
STE	A 2/B 2	1.422	1.423	1.423	98	99	98	100	0
STF	C 2/D 2	1.989	1.973	1.981	204	199	201	200	1

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При исследовании нормального диапазона значений анти-Sm антител в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

анти-Sm антитела [Ед/мл]	
норма:	< 15
пограничная зона:	15 - 25
повышенные значения:	> 25

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии для анти-Sm антител.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

Сыворотки с высокой концентрацией антител класса IgG были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом.

Образец	разведение	**полученное** [Ед/мл]	ожидаемое [Ед/мл]	п/о
1	1:100	161.4		
	1:200	81.0	8037	100 %
	1:400	39.1	40.4	97 %
	1:800	19.3	20.2	96 %
2	1:100	292.6		
	1:200	146.9	146.3	100%
	1:400	73.3	73.2	100%
	1:800	35.2	36.6	96%

Воспроизводимость

Статистика для коэффициентов вариации (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 опреде-лениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии, воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	51.4	4.1
2	84.8	2.0
3	157.2	2.6

Между сериями		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	53.3	5.3
2	83.7	2.6
3	153.9	1.3

Чувствительность

Нижняя граница определения анти-Sm антител составляет 1 Ед/мл.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Микропланшет покрыт особочистым препаратом Sm, очищенным методом афинной хроматографии. Тест для определения анти-Sm антител только антитела специфичные к Sm. Перекрестных реакций с антителами к другим ENA-антигенам не наблюдалось.

КАЛИБРОВКА

Поскольку не существует другого международно признанного стандарта аутоантител к Sm, тест-система прокалибрована по признанной международным стандартом сыворотке CDC, Atlanta USA.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Данный набор предназначен для диагностических целей. Однако окончательный диагноз не должен базироваться только на результатах одного теста, но должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

На результаты анализа не оказывал гемолиз (до 1000 мг/дл), липемия (до 3 г/дл триглицеридов) или присутствие билирубина (до 40 мг/дл) в сыворотке. Использование различных коагулянтов также не оказывало влияния. Однако, из практических соображений, не рекомендуется использовать сильно гемолизованные или липемичные образцы.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ЛИТЕРАТУРА
1. Antinuclear Antibodies The Lancet 1984; 15: 611 - 613.
2. Froelich, Ch. J., Wallmann, H., Skosey, J. L. and Teodorescu, M. Clinical Value of an Integrated ELISA System for the Detection of 6 Autoantibodies (ssDNA, dsDNA, Sm, RNP/Sm, SSA and SSB). The Journal of Rheumatology 1990; Vol 17, No 2: 192 - 200.
3. Harley, J. B. and Gaither, K. K. Autoantibodies. Rheumatic Disease Clinics of North America 1988; Vol 14, No 1: 43 - 56.
4. Slobbe, R.L. et al. Detection and occurence of the 60- and 52-kD Ro (SS-A) antigens and of autoantibodies against these proteins. Clin. Exp. Immunol. 1991; 86: 99 - 105.
5. Hartung, K. and Deicher, H. Systemischer Lupus erythematodes. Allergologie 1985; Jahrgang 8, Nr. 7: 275 - 281.
6. Hartung, K. and Deicher, H. Symptome und Symptommuster beim systemischen Lupus erythematodes.
Die Internistische Welt 1987; 9: 236 - 241.
7. Takeda, J. et al. Antigenic Domains on the U1 Small Nuclear Ribonucleoprotein-Associated 70K Polypeptide: A Comparison of Regions Selectively Recognized by Human and Mouse Autoantibodies and by Monoclonal Antibodies.
Clinical Immunology and Immunopathology 1991; 61: 55 - 68.
8. Reichlin, M. and Van Venrooij, W. J. Autoantibodies to the URNP particles: relationship to clinical diagnosis and nephritis. Clin. exp. Immunol. 1991; 83: 286 - 290.
9. Hietarinta, M., Lassila, O. and Hietaharju, A. Association of Anti-U1RNP- and Anti-Scl-70-antibodies with Neurological Manifestations in Systemic Sclerosis (Scleroderma). Scand. J. Rheumatol. 1994; 23: 64 - 67.
10. Reveille, J.D. et al. Racial Differences in the Frequencies of Scleroderma-related Autoantibodies. Arthritis and Rheumatism 1992; Vol 35, No 2: 216 - 218.
11. Genth, E. and Mierau, R. Jo-1-(Antisynthetase-)Syndrom - verbessern Autoantikorper die Klassifikation von Myositiden? Zeitschrift fur Rheumatologie 1993; 52: 259 - 263.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
определении анти-Sm антител

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов
   → Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре
   → Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата
   → Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре
   → Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ
   → Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре
4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора
   → Выдержите **5 минут**
   → Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

ORGENTEC

CE

511_3

ORG 511 Anti-RNP/Sm

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Anti-RNP/Sm - это тест-система ELISA для количественного измерения аутоантител класса IgG к RNP/Sm в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики.

Антитела против комплекса RNP/Sm необходимы при диагностике смешанного заболевания соединительной ткани (MCTD, синдром Шарпа) и связанных с ним аутоиммунных заболеваний. Антитела против белка этого комплекса массой 70 кДа являются очень специфичным маркером синдрома Шарпа. Белки Sm распознаются антителами, которые могут возникать в случаях смешанного заболевания соединительной ткани и системной красной волчанки. Оценка результатов теста всегда должна учитывать все клинические и лабораторные диагностические данные.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
Σ 96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
511_3	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR A	Калибратор
CALIBRATOR B	Калибратор
CALIBRATOR C	Калибратор
CALIBRATOR D	Калибратор
CALIBRATOR E	Калибратор
CALIBRATOR F	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE	Ферментный конъюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Высокоочищенный RNP/Sm абсорбирован на поверхности микропланшетных лунок.
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами: Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 511	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию.Цветовой код на модуле
CALIBRATOR A		1x 1.5 ml Калибратор A 0 Ед/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B		1x 1.5 ml Калибратор B 12,5 Ед/мл, содержащий антитела к RNP/Sm в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C		1x 1.5 ml Калибратор C 25 Ед/мл, содержащий антитела к RNP/Sm в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D		1x 1.5 ml Калибратор D 50 Ед/мл, содержащий антитела к RNP/Sm в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E		1x 1.5 ml Калибратор E 100 Ед/мл, содержащий антитела к RNP/Sm в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F		1x 1.5 ml Калибратор F 200 Ед/мл, содержащий антитела к RNP/Sm в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +		1x 1.5 ml Контроль положительный, содержащий антитела к RNP/Sm в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA,детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −		1x 1.5 ml Контроль отрицательный, содержащий антитела к RNP/Sm в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT		20 ml Дилюент P, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE		15 ml Ферментный конъюгат, содержащий антитела IgG против человека, меченный HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент, содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм;

дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления.

Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.
- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.
Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

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

P1, ... Проба пациента A-F Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.
Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

КАЛИБРОВКА

Система анализа откалибрована по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет 0 - 200 U/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off 25 U/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный:	< 15 U/ml
Пограничный:	15 - 25 U/ml
Положительный:	> 25 U/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый U/ml	Ожидаемый U/ml	H/O [%]
1	1:100	161.4	161.4	100
.	1:200	78.0	80.7	97
.	1:400	39.7	40.4	98
.	1:800	20.1	20.2	100
2	1:100	167.2	167.2	100
.	1:200	83.7	83.6	100
.	1:400	41.5	41.8	99
.	1:800	20.8	20.9	100

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: 1 U/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.
Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	65.6	4.1
2	101.9	5.9
3	182.0	1.8

Анализ между сериями		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	33.3	4.2
2	109.0	3.1
3	176.8	2 9

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n Поз	%
СКВ	70	37	52.9
MCTD	30	29	96.7
Ревматоидный артрит	20	3	15.0
Нормальные человеческие сыворотки	100	2	2.0

		Клинический диагноз	
		Поз	Нег
ORG 511	Поз	66	5
	Нег	34	115
		100	120

220

Чувствительность: 66.0 %
Специфичность: 95.8 %
Общая достоверность 82.3 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально. Приведенные выше патологические и нормальные референсные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Velte CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sci 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?--The routine use of anti-nuclear antibody screening ELISAs. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль

Прежняя версия: *ORG 511_IFU_EN_QM113138_2013-12-16_1.2* Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

ORGENTEC

CE

512_3

ORG 512 Anti-Scl-70

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Anti-Scl-70 - это тест-система ELISA для количественного измерения аутоантител класса IgG к Scl-70 в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики.
Антитела против Scl-70 (ДНК-топоизомеразы I) являются общепринятым маркером прогрессирующей системной склеродермии. Они способствуют дифференциальной диагностике склеродермии. Оценка результатов теста всегда должна учитывать все клинические и лабораторные диагностические данные.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
Σ 96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
512_3	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR A	Калибратор
CALIBRATOR B	Калибратор
CALIBRATOR C	Калибратор
CALIBRATOR D	Калибратор
CALIBRATOR E	Калибратор
CALIBRATOR F	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE	Ферментный конъюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Высокоочищенный Scl-70 абсорбирован на поверхности микропланшетных лунок.
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами: Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 512	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Цветовой код на модуле
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 0 Ед/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 12,5 Ед/мл, содержащий антитела к Scl-70 в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 25 Ед/мл, содержащий антитела к Scl-70 в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 50 Ед/мл, содержащий антитела к Scl-70 в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 100 Ед/мл, содержащий антитела к Scl-70 в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F	1x 1.5 ml	Калибратор F 200 Ед/мл, содержащий антитела к Scl-70 в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 ml	Контроль положительный, содержащий антитела к Scl-70 в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий антитела к Scl-70 в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Дилюент P, содержит PBS, BSA, моющее средство, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий антитела IgG против человека, меченный HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, моющее средство, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления.

Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.

- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.
Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

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

P1, ... Проба пациента A-F Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.

Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Калибровка

Система анализа откалибрована по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет 0 - 200 U/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off 25 U/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный:	< 15 U/ml
Пограничный:	15 - 25 U/ml
Положительный:	> 25 U/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый U/ml	Ожидаемый U/ml	H/O [%]
1	1:100	146.9	146.9	100
	1:200	76.3	73.5	104
	1:400	38.1	36.7	104
	1:800	18.8	18.4	102
2	1:100	122.3	122.3	100
	1:200	60.4	61.2	99
	1:400	29.6	30.6	97
	1:800	14.8	15.3	97

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: 1 U/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.

Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	45.7	4.0
2	90.4	3.2
3	184.1	3.4

Анализ между сериями		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	41.1	2.8
2	89.9	2.8
3	157.4	2.3

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n Pos	%
Склеродермия	25	19	76.0
Ревматоидный артрит	20	0	0.0
Нормальные человеческие сыворотки	80	1	1.3

		Клинический диагноз	
		Поз	Нег
ORG 512	Поз	19	1
	Нег	6	99
		25	100 125

Чувствительность:	76.0	%
Специфичность:	99.0	%
Общая достоверность:	94.4	%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а

должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально. Приведенные выше патологические и нормальные референсные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Velte CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sci 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?--The routine use of anti-nuclear antibody screening ELISAs. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Изменен контроль

Прежняя версия: *ORG 512_IFU_EN_QM113139_2013-12-16_1.2* Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

ORGENTEC

CE

508_3

ORG 508 Anti-SS-A

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Anti-SS-A - это тест-система ELISA для количественного измерения аутоантител класса IgG к SS-A (52 и 60 кДа) в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики.
Этот тест применяется для дифференциальной диагностики и мониторинга системных ревматических воспалительных аутоиммунных заболеваний. Аутоантитела против двух антигенов SS-A 52 и SS-A 60 преимущественно обнаруживаются в случаях синдрома Шегрена. Оценка результатов теста всегда должна учитывать все клинические и лабораторные диагностические данные.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
Σ 96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
508_3	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR A	Калибратор
CALIBRATOR B	Калибратор
CALIBRATOR C	Калибратор
CALIBRATOR D	Калибратор
CALIBRATOR E	Калибратор
CALIBRATOR F	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE	Ферментный конъюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Высокоочищенный SS-A (52 и 60 кДа) абсорбирован на поверхности микропланшетных лунок.
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами: Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизованными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 508	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Цветовой код на модуле
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 0 Ед/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 12,5 Ед/мл, содержащий антитела к SS-A в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 25 Ед/мл, содержащий антитела к SS-A в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 50 Ед/мл, содержащий антитела к SS-A в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 100 Ед/мл, содержащий антитела к SS-A в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F	1x 1.5 ml	Калибратор F 200 Ед/мл, содержащий антитела к SS-A в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 ml	Контроль положительный, содержащий антитела к SS-A в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий антитела к SS-A в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Дилюент P, содержит PBS, BSA, моющее средство, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий антитела IgG против человека, меченный HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, моющее средство, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления. Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.
- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.
Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

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

P1, ... Проба пациента A-F Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.

Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Калибровка

Система анализа откалибрована по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет 0 - 200 U/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off 25 U/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный:	< 15 U/ml
Пограничный:	15 - 25 U/ml
Положительный:	> 25 U/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый U/ml	Ожидаемый U/ml	H/O [%]
1	1:100	139.0	139.0	100
	1:200	67.9	69.5	98
	1:400	33.0	34.8	95
	1:800	17.2	17.4	99
2	1:100	161.6	161.6	100
	1:200	70.6	80.8	87
	1:400	39.2	40.4	97
	1:800	20.0	20.2	99

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: 1 U/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.

Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	32.2	2.7
2	73.2	2.6
3	134.0	3.6

Анализ между сериями		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	33.8	6.4
2	71.3	6.2
3	133.1	1.1

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n Поз	%
с синдромом Шегрена	70	51	72.9
Нормальная сыворотка человека	100	7	7.0

		Клинический диагноз		
		Поз	Нег	
ORG 508	Поз	51	7	
	Нег	19	93	
		70	100	170

Чувствительность:	72.9	%
Специфичность:	93.0	%
Общая достоверность:	84.7	%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента.

Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально. Приведенные выше патологические и нормальные референсные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912. 3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30. 7. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Velte CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sci 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?--The routine use of anti-nuclear antibody screening ELISAs. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Изменен контроль

Прежняя версия: ORG 508_IFU_EN_QM113135_2013-12-16_1.2 Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

ORGENTEC

CE

509_3

ORG 509 Anti-SS-B

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Anti-SS-B - это тест-система ELISA для количественного измерения аутоантител класса IgG к SS-B (La) в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики.
Антитела против SS-B используются для дифференциальной диагностики системных воспалительных аутоиммунных заболеваний. Аутоантитела против белка SS-B обычно обнаруживаются вместе с анти-SS-A в случаях синдрома Шегрена. Оценка результатов теста всегда должна учитывать все клинические и лабораторные диагностические данные.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
Σ 96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
509_3	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR A	Калибратор
CALIBRATOR B	Калибратор
CALIBRATOR C	Калибратор
CALIBRATOR D	Калибратор
CALIBRATOR E	Калибратор
CALIBRATOR F	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE	Ферментный конъюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Высокоочищенный SS-B абсорбирован на поверхности микропланшетных лунок.
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами:
Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.

  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 509	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Цветовой код на модуле
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 0 Ед/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 12,5 Ед/мл, содержащий антитела к SS-B в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 25 Ед/мл, содержащий антитела к SS-B в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 50 Ед/мл, содержащий антитела к SS-B в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 100 Ед/мл, содержащий антитела к SS-B в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F	1x 1.5 ml	Калибратор F 200 Ед/мл, содержащий антитела к SS-B в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 ml	Контроль положительный, содержащий антитела к SS-B в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий антитела к SS-B в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Дилюент P, содержит PBS, BSA, моющее средство, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий антитела IgG против человека, меченный HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, моющее средство, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления. Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.
- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.
Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

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

P1, ... Проба пациента A-F Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.

Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Калибровка

Система анализа откалибрована по международно признанным эталонным сывороткам из CDC, Атланта, США.

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет 0 - 200 U/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off 25 U/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный:	< 15 U/ml
Пограничный:	15 - 25 U/ml
Положительный:	> 25 U/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый U/ml	Ожидаемый U/ml	H/O [%]
1	1:100	124.2	127.1	98
	1:200	62.4	34.8	98
	1:400	33.2	17.4	104
	1:800	16.1	8.7	101
2	1:100	104.4	104.4	100
	1:200	53.1	52.2	102
	1:400	27.6	26.1	106
	1:800	13.9	13.1	107

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: 1 U/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.

Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	28.8	5.6
2	67.1	5.8
3	143.2	5.2

Анализ между сериями		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	24.5	11.0
2	70.5	6.9
3	157.6	4.1

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n Поз	%
Синдром Шегрена	70	43	61.4
Ревматоидный артрит	20	1	5.0
Нормальные человеческие сыворотки	100	4	4.0

Клинический диагноз

		Поз	Нег	
ORG 509	Поз	43	5	
	Нег	27	115	
		70	120	190

Чувствительность:	61.4	%
Специфичность:	95.8	%
Общая достоверность:	83.2	%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а

должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально. Приведенные выше патологические и нормальные референтные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Alba P, Bento L, Cuadrado MJ, Karim Y, Tungekar MF, Abbs I et al. Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. Ann Rheum Dis 2003; 62(6):556-560.
2. Antico A, Platzgummer S, Bassetti D, Bizzaro N, Tozzoli R, Villalta D. Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the Crithidia luciliae immunofluorescence test. Lupus 2010; 19(8):906-912.
3. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree EW, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A et al. Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis. Ann Rheum Dis 2001; 60(2):116-123.
4. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125(2 Suppl 2):S238-S247.
5. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. Autoimmun Rev 2011; 10(3):150-154.
6. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapaa-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of Systemic Lupus Erythematosus in northern Sweden. Arthritis Research & Therapy 2011; 13(1):R30.
7. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: the role of analytical diversity. Ann Rheum Dis JID - 0372355 2004; 63 (4):386-394.
8. Ippolito A, Wallace DJ, Gladman D, Fortin PR, Urowitz M, Werth V et al. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: comparison of historical and current assessment of seropositivity. Lupus 2011; 20(3):250-255.
9. Isenberg DA, Manson JJ, Ehrenstein MR, Rahman A. Fifty years of anti-ds DNA antibodies: are we approaching journey's end? Rheumatology (Oxford) 2007; 46(7):1052-1056.
10. Kattah NH, Kattah MG, Utz PJ. The U1-snRNP complex: structural properties relating to autoimmune pathogenesis in rheumatic diseases. Immunol Rev 2010; 233(1):126-145.
11. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. Diagn Pathol 2009; 4:1.
12. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. Ann Rheum Dis 2010; 69:1420 -1422.
13. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. Lupus 2004; 13(11):829 -837.
14. Poole BD, Schneider RI, Guthridge JM, Velte CA, Reichlin M, Harley JB et al. Early targets of nuclear RNP humoral autoimmunity in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2009; 60(3):848-859.
15. Putova I, Dostal C, Becvar R. Prevalence of antinucleosome antibodies by enzyme-linked immunosorbent assays in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune systemic diseases. Ann N Y Acad Sci 2007; 1109:275-286.
16. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. Lupus JID - 9204265 2004; 13(5):290-297.
17. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2):220-224.
18. Sinclair D, Saas M, Williams D, Hart M, Goswami R. Can an ELISA replace immunofluorescence for the detection of anti-nuclear antibodies?--The routine use of anti-nuclear antibody screening ELISAs. Clin Lab 2007; 53(3-4):183-191.
19. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Pathol 2002; 117(2):316-324.
20. Maidhof W., Hilias O. Lupus: an pverview of the disease and management options. P T 2012; 37(4):240-9.
21. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2012; 64(6):797-808.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Изменен контроль

Прежняя версия:*ORG 509_IFU_EN_QM113136_2013-12-16_1.2* Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-Rib-P

Кат. Номера ORG 517
96 тестов

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANTI-Rib-P предназначен для количественного определения аутоантител к рибосомальному белку P в человеческой сыворотке или плазме. Этот метод предназначен только для диагностики *in vitro* с целью диагностики системной красной волчанки (SLE) и других заболеваний соединительной ткани.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Антитела к рибосмальным белкам (анти-Rib-P или анти-RPP) имеют особую клиническую значимость в дифференциальной диагностике системной красной волчанки (SLE). Анти-Rib-P антитела направлены к общим эпитопам трех фосфопротеинов (P0, P1 P2), которые являются основными составляющими субъединицы 60s рибосомальных комплексов RNP.

При системной волчанке, которая ассоциирована с депрессией и/или другими психологическими симптомами присутствие анти-Rib-P антител показано в 40 – 90 % случаев.

Определение антител к рибосомальным P-белкам имеет значение в дифференциальной диагностике SLE, особенно в случаях, когда классические антитела, характерные для SLE, отсутствуют.

ПРИНЦИП МЕТОДА

В лунках планшета сорбирован высокочистый а рибосомальный белок P. В ходе анализа происходят: связывание присутствующих аутоантител. Промывочный раствор удаляет несвязавшиеся компоненты сыворотки. Раствор коньюгата анти-IgG человека-пероксидаза хрена связывается с аутоантителами пациента с формированием иммунного комплекса конъюгат-антитела. Несвязавшийся ферментный коньюгат удаляется промывочным раствором. Хромогенный раствор субстрата, содержащий ТМБ, в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислого стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG в образце и измеряется при 450 нм.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту B 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит фосфорную кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, сорбированный высоко очищенной MPO, помещенный в пакет из фольги с осушителем. Готов для использования.	1
Калибраторы антител к Rib-P (A-F) в сыворотке/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие следующие концентрации: 0; 12.5; 25; 50; 100; и 200 Е/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли анти-Rib-P антител в буфере/сыворотке (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)): положительный (1) и отрицательный контроль (2), точные концентрации указаны во вкладыше к набору. Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris буфер, NaN_3<0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат*** 5x	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, Проклин 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-IgG человека антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (фосфатно-солевой буфер, NaN_3<0,1%(w/w), ***концентрат***, 50x	1 флакон 20 мл

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1 Соберите образцы крови обычной венопункцией, избегая гемолиза.
2 Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием
3 Избегайте гемолиза, липемии или микробиологического загрязнения сыворотки
4 Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.
5 Для предотвращения повторных циклов замораживания-оттаивания (это может привести к потере активности антител) следует приготовить аликвоты образцов.
6 Использование для анализа инактивированной нагреванием сыворотки не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28^{o}C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов 1:100 буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

П Р О В Е Д Е Н И Е А Н А Л И З А

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и предварительно разбавленных проб пациентов.

2. Добавьте в ячейки **100 мкл** контролей, калибраторов и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре (20 - 28°C).

4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

10 Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и позвольте постоять 5 минут.

11.Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного и положительного контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов

Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации. Может быть также использована аппроксимация Smoothed Spline и log-log координаты.

Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага.

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

Пример расчетов

Ниже приведены типичные результаты, полученные при тестировании набором Anti-Rib-P ELISA. Эти данные приведены только для примера и не должны быть использованы для каких-либо расчетов.

Стандарты									
No	положение	ОП 1	ОП 2	среднее	конц. 1	конц. 2	среднее	Конц. теор.	CV %
ST1	A 1/A 2	0.052	0.055	0.054	0.1	0.1	0.1	0.0	4
ST2	B 1/B 2	0.511	0.520	0.515	12.4	12.8	12.6	12.5	1
ST3	C 1/C 2	0.799	0.826	0.813	24	25	25	25	2
ST4	D 1/D 2	1.204	1.235	1.220	49	52	50	50	2
ST5	E 1/E 2	1.642	1.618	1.630	102	98	100	100	1
ST6	F 1/F 2	1.981	1.972	1.977	201	197	199	200	0

Ожидаемые значения

При изучении нормального диапазона использовались образцы сыворотки из крови здоровых доноров, и был установлен следующий диапазон значений для анти- MPO антител:

	Антитела к Rib-P, Ед/мл
Нормальный уровень:	< 10
Повышенный уровень:	≥ 10

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к Rib-P. Значения выше референсного диапазона должны рассматриваться только как ориентировочные.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы. Была показана линейность метода на всем диапазоне измеряемых значений.

Воспроизводимость

Статистика для коэффициентов корреляции (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одной постановке для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных анализов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Значение [E/мл]	CV [%]
1	24.6	6.3
2	63.8	2.4
3	122.4	3.7

Между сериями		
Образец No	Значение [E/мл]	CV [%]
1	27.2	6.4
2	65.1	4.4
3	120.4	3.8

Чувствительность

Минимально определяемый предел для анти-Rib-P – 1,0 E/мл.

Специфичность

Микропланшет покрыт высокочистым рибосомальным белком P (Rib-P) в качестве антигена.Данный метод Anti-Rib-P распознает только аутоантитела специфические к фосфобелкам P0, P1 и P2 субъединицы 60s рибосомальных RNP комплексов.

КАЛИБРОВКА

Так как не существует международно признанного стандарта для антител к Rib-P, стандарты прокалиброваны в относительных арбитражных единицах.

Ограничения метода

Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Анти-Rib-P антитела выявляются не у всех больных SLE.

Анти-Rib-P антитела выявляются не у всех больных SLE с неврологическими симптомами.

Интерференции

Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

Литература

См. инструкцию на английской языке.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Определение анти-Rib-P антител

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

↘ Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

↘ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

↘ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

↘ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ

↘ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

↘ Выдержите **5 минут**

↘ Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-RNP-70

96 тестов

Кат. Номер ORG 632

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского оригинала. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANTI-RNP-70 предназначен для определения аутоантител класса G к RNP 70 в сыворотке или плазме человека. Этот метод предназначен для диагностики *in vitro* системной красной волчанки и смешанного заболевания соединительной ткани.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Перекрёстный синдром (Overlap syndrome) – это общий термин, созданный для того, чтобы объединить разные воспалительные аутоиммунные заболевания, характеризующиеся наложением симптомов системной красной волчанки (СКВ), прогрессирующей системной склеродермии (ПСС), дермато/полимиозита (ДМ/ПМ), ревматоидного артрита (РА) и синдрома Шегрена.
Смешанное заболевание соединительной ткани (СЗСТ) – хорошо изученный перекрёстный синдром, для которого характерны специфические клинические манифестации, наличие антител различной специфичности и характерный фенотип HLA-антигенов (т.е. DR2 и DR4). Крайнее клиническое проявление СЗСТ - это феномен Рейно, для которого специфическим симптомом является сосудистый отёк пальцев и рук. Кроме этого, пациенты страдают от артрита. У пациентов с СЗСТ часто находят симптомы различных перекрёстных соединительно-тканных заболеваний. Однако, они могут проявиться не у всех пациентов.

Серологически СЗСТ характеризуется присутствием аутоантител, направленных против белка 70 kDa (также называемого белок 60 kDa) U1-snrnp-комплекса сплайсосом. До 100% больных с СЗСТ имеют высокие титры анти-RNP-70 анатител. Пациенты, у которых выявляют только анти - RNP-70 анатитела из всего разнообразия антиядерных антител, имеют классические клинические проявления СЗСТ. Дополнительно, у этих пациентов часто находят типичные для СКВ антитела (например, анти-dsDNA, анти-Sm, анти-гистоновые). В этих случаях классическое СЗСТ разовьётся в СКВ.

U1-snRNP молекула (функция которой - сплайсинг пре-мрнк) состоит из уридинового, богатого РНК комплекса с классическими RNP-антигенами, то есть протеина 70 kDa, протеина A (33 kDa) и протеина C (22 kDa). Также с этой РНК связаны специфические Sm-белки. Анти-Sm антитела – патогномоничные для СКВ маркёры. В наборе ORGENTEC Anti-RNP-70 ELISA ячейки покрыты исключительно белком 70 kda U1-snRNP комплекса. Соответственно, этот анализ обеспечивает высоко специфичное обнаружение главным образом СЗСТ-ассоциированных анти-RNP-70 антител.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты человеческой рекомбинантным RNP 70. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.
Антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту B 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7 Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
8 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
9 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
10 Не отбирайте образцы ртом
11 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
12 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых человеческим фодрином. Готов к использованию.	1
Стандарты с анти-RNP 70 в сывороточно/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие: 0, 12.5, 25, 50, 100 и 200 Ед/мл. Готовы к использованию.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к RNP 70 в сывороточно/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию.	3 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3‹0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат (5x)***.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, PROCLIN 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (фосфатно-солевой буфер, NaN3‹0,1%(w/w)), ***концентрат (50x).***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Соберите образец цельной крови стандартной венопункцией, избегая гемолиза.

1 Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием
2 Избегайте гемолиза, липемии или микробиологического загрязнения сыворотки
3 Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.
4 Для предотвращения повторных циклов замораживания-оттаивания (это может привести к потере активности антител) следует приготовить аликвоты образцов.
5 Все пробы сыворотки и плазмы должны быть разбавлены 1:100 буфером для образцов. Следовательно, 10 мкл образца могут быть разбавлены 1000 мкл буфера.
6 Использование для анализа инактивированной нагреванием сыворотки не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28^{o}C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре (18-28 °С).

4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного и положительного контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов

Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации и log-log координаты.

Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага.

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При исследовании нормального диапазона значений антител к RNP 70 у здоровых доноров получены следующие значения:

	Антитела к RNP 70, Ед/мл
Нормальный уровень:	< 25
Повышенный уровень:	≥ 25

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к RNP 70.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы. Анализ был линеен во всем диапазоне измерения.

Воспроизводимость

Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 6 различных опытов по 8 определений каждого образца:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Внутри серии		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	12.8	5.8
2	105.0	3,9
3	182.0	5.7

Между сериями		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	14.4	4.9
2	108.7	5.2
3	175.2	5.2

Чувствительность
Нижняя граница определения для данного набора – 1,0 Ед/мл.

Специфичность
Микропланшет покрыт рекомбинантным RNP 70. Тест специфичен только для аутоантител к RNP 70. Не наблюдается кросс-реактивности с другими аутоантигенами.

Калибровка
До тех пор, пока не появится международный референс-стандарт для антител к RNP 70, аналитическая система калибруется в относительных условных единицах.

Ограничения метода
Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Интерференции
Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Antinuclear Antibodies
   The Lancet 1984; 15: 611 - 613.

2. Harley, J. B. and Gaither, K. K.
   Autoantibodies.
   Rheumatic Disease Clinics of North America 1988; Vol 14, No 1: 43 - 56.

3. Hartung, K. and Deicher, H.
   Systemischer Lupus erythematodes.
   Allergologie 1985; Jahrgang 8, Nr. 7: 275 - 281.

4. Hartung, K. and Deicher, H.
   Symptome and Symptommuster beim systemischen Lupus erythematodes.
   Die Internistische Welt 1987; 9: 236 - 241.

5. Takeda, J. et al.
   Antigenic Domains on the U1 Small Nuclear Ribonucleoprotein-Associated 70K Polypeptide: A Comparison of Regions Selectively Recognized by Human and Mouse Autoantibodies and by Monoclonal Antibodies.
   Clinical Immunology and Immunopathology 1991; 61: 55 - 68.

6. Reichlin, M. and Van Venrooij, W. J.
   Autoantibodies to the URNP particles: relationship to clinical diagnosis and nephritis.
   Clin. exp. Immunol. 1991; 83: 286 - 290.

7. Hietarinta, M., Lassila, O. and Hietaharju, A.
   Association of Anti-U1RNP- and Anti-Scl-70-antibodies with Neurological Manifestations in Systemic Sclerosis (Scleroderma).
   Scand. J. Rheumatol. 1994; 23: 64 - 67.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Добавить	Контроли
100 µл стандартов в микроячейки	**100 µл** контролей или проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут** и Считать при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-Centromere B

Кат. № ORG 633

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор Anti-Centromere B предназначен для количественного определения аутоантител класса IgG к центромеру B методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) в сыворотке и плазме человека. Метод предназначен только для диагностики *in vitro,* в целях диагностики CREST-синдрома.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Прогрессирующая системная склеродермия (PSS) – это аутоиммунное мультисистемное заболевание, характеризующееся кальцинозом кожи. PSS характеризуется поражением соединительной ткани и сосудов микроваскуляторного русла, приводящее к медленно прогрессирующему фиброзу и склерозу на поздней стадии заболевания. Кроме кожи, у пациентов больше всего поражен желудочно-кишечный тракт. Кроме того, заболевание затрагивает почки, легкие, сердце и мускулатура.

Серологическим признаком PSS может быть выявление антинуклеарных антител. У до 86% пациентов, страдающих склеродермией, выявляются антитела к антигену Scl-70, или топоизомеразе I. Анти-Scl-70 антитела чаще всего присутствуют у пациентов с диффузными проявлениями PSS (с поражениями легких, суставов и тенденцией к быстрой прогрессии).

CREST-синдром – это вариант PSS, с более замедленным течением. Прогноз значительно более благоприятный по сравнению с больными PSS. Акроним CREST составлен из первых букв пяти наиболее важных клинических проявлений: Кальциноз (Calcinosis), Рейно феномен (Raynaud's phenomenon), дисфункция пищевода (esophageal involvement), склеродактилия (sclerodactyly), телеангиэктазия (teleangiectasia).

У больных CREST-синдромом могут выявляться циркулирующие аутоантитела к центромерному белку B. Показано, что примерно у 70% всех пациентов с CREST-синдромом присутствуют аутоантитела к центромеру B.

Определение анти-центромер B аутоантител имеет прогностическую значимость в диагностике феномена Рейно. Феномен Рейно часто обнаруживается как первый симптом склеродермии и предшествует остальным проявлениям на несколько лет.

Антитела к центромеру B могут быть выявлены у больных с первичным биллиарным циррозом (PBC). PBC и CREST-синдром часто встречаются вместе. Анти-центромер B антитела выявляются у примерно 10-20% пациентов с PBC, предпочтительно выявляя пациентов с феноменом Рейно и склеродактилией. Среди других центромерных белков (например, CENP-A (19 кДа), CENPC (140 кДа)), центромерный белок B (80 кДа) относится к белковому комплексу хромосомного кинетохора, структуры, обеспечивающей прикрепление нитей веретена во время деления клеток.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Рекомбинантный центромерный белок B сорбирован в лунках микропланшета. Если антитела к этому антигену присутствуют в разведенных образцах сыворотки или плазмы, то они связываются с иммобилизованным в микроячейках антигеном. При промывке удаляют не связавшиеся компоненты сыворотки или плазмы. Конъюгат антител к IgG человека с пероксидазой хрена добавляется в ячейки и иммунологически связывается с аутоантителами пациентов, связанных с иммобилизованными антигенами, в результате чего образуются комплексы конъюгат/антитело/антиген. Избыток конъюгата удаляется при следующей промывке. Раствор хромогенного субстрата в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты в качестве стоп-раствора, при этом цвет раствора меняется на желтый. Интенсивность этого окрашивания определяют фотометрически при 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg и ВИЧ. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Стоп-раствор содержит раствор кислоты. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. Он способен образовывать взрывоопасные соединения при длительном контакте с медью или свинцом. При использовании реагентов, содержащих азид натрия необходимо наличие большого количества воды. Азид натрия может быть токсичен при попадании внутрь организма. В концентрациях, присутствующих в реагентах, он не токсичен. Несмотря на классификацию как не токсичного вещества, мы настоятельно рекомендуем следовать обычной лабораторной практике обращения с опасными веществами (см. 8., 9., 10).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При выливании реагентов, содержащих Proclin 300, необходимо смывать большим количеством воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.
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.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 лунок каждый, покрытых рекомбинантным центромерным белком B. Готов к использованию	1
Стандарты анти-центромер B антител (A-E) в сывороточно/буферном (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе, содержащие: IgG: 0; 10; 30; 100 и 300 ед/мл. Готовы к использованию	5 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к анти-центромер B антителам в сывороточно-буферном (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе, положительный (1) и отрицательный (2), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат 5***x	1 флакон 20 мл
Раствор (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Промывочный буфер, ***концентрат 50*x**	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ
1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C
2. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
4. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.
5. Разведенные буфер для промывок и буфер для образцов стабильны при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ
Оборудование
- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Вортекс
- Многоканальные пипетки или дозаторы на 100 мкл
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Лабораторный таймер
- программное обеспечение для анализа данных

Приготовление реагентов
- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения буфера для промывок

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ
1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ
1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Наносите все реагенты и образцы на дно лунок
8. Для избежания контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
9. Для достижения наилучших результатов необходима тщательная промывка. После промывки тщательно удалите остатки буфера из лунок.
10. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
11. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.
12. Не используйте повторно стрипы микропланшета.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации можно построить калибровочную кривую и провести полуколичественную оценку образцов сывороток пациентов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое каждого флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8°C 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8°C 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление образцов

Разведите все образцы сывороток пациентов в 100 раз буфером для образцов перед исследованием. Например, смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте.

Контроли и стандарты готовы к использованию и не требуют разведения.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разведенных проб сывороток пациентов в дублях.

2. Добавьте в соответствующие ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и предварительно разведенных образцов.

	1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*
A	SA	SE	P1	P5		
B	SA	SE	P1	P5		
C	SB	SF	P2	P..		
D	SB	SF	P2	P..		
E	SC	C1	P3			
F	SC	C1	P3			
G	SD	C2	P4			
H	SD	C2	P4			

SA-SF: стандарты A - F
P1, P2...C: образцы сыворотки или плазмы пациентов 1, 2 ...
C1: положительный контроль
C2: отрицательный контроль

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20-28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и инкубируйте 5 минут при комнатной температуре.
11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация: Тест-система ORGENTEC Anti-Centromere B IgG ELISA может быть использована с открытым автоматизированным оборудованием для ELISA. Процедура теста, приведенная выше, применима как для ручного так и для автоматического исполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1), Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и E полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерений в дублях, и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные средние значения ОП стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании диапазона нормальных значений анти-центромер B антител в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

Анти-центромер B антитела IgG [Ед/мл]:
норма: < 10
повышенные значения: ≥ 10

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к центромеру B. Приведенный референсный диапазон должен использоваться только как ориентировочный.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

В экспериментах по разведению сыворотки с высокой концентрацией антител были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом Anti-Centromere B IgG ELISA. Тестирование показало линейность метода во всем измеряемом диапазоне.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Воспроизводимость
Воспроизводимость рассчитывали для каждого из трех образцов, по результатам 24 определений в одной постановке и Воспроизводимость между сериями рассчитывали по результатам 5 различных постановок, по 6 определений в каждой:

Внутри серии				Между сериями		
образец №	среднее [ед/мл]	CV [%]		образец №	среднее [ед/мл]	CV [%]
1	15.2	5.4		1	16.4	5.4
2	122.0	4.4		2	125.6	5.0
3	220.0	4.7		3	225.4	4.2

Чувствительность
Нижняя граница определения анти-центромер В антител составляет 1 Ед/мл.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Микропланшет покрыт рекомбинантным центромером В. Данный тест специфичен только по отношению к аутоантителам к указанному антигену. Не наблюдалось какой-либо перекрестной реактивности с другими аутоантигенами.

КАЛИБРОВКА
Поскольку не существует международно признанного стандарта аутоантител к центромеру В, тест-система прокалибрована в условных единицах.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Тест-система ORGENTEC Anti-Centromere B IgG ELISA может быть использована как часть диагностической процедуры, но сама по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ
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.

ЛИТЕРАТУРА
См. инструкцию на английском языке.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
Антитела к лизоциму

Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

1. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора субстрата

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

3. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

Выдержите **5 минут**

Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-ssDNA

96 тестов

Кат. Номер ORG 605

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского оригинала. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANTI-ssDNA предназначен для количественного определения антител класса G против однонитевой ДНК в человеческой сыворотке или плазме. Этот метод предназначен для диагностики *in vitro* только системной красной волчанки.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Аутоиммунные заболевания характеризуются присутствием антител против собственных антигенных структур - так называемые аутоантитела. Наличие аутоантител к нативной дезоксирибонуклеиновой кислоте (н-ДНК, дсДНК, двунитевой ДНК) типично для клинической картины системной красной волчанки (СКВ).

Антитела против дсДНК относятся к группе антинуклеарных антител (АНА), направленных против различных структур ядра клетки. Они появляются при различных ревматоидных заболеваниях. Кроме АНА интерес представляют антитела другой группы, направленные против так называемых экстрагируемых ядерных антигенов (ENA). Критерии Американской Ассоциации Ревматологии предлагают развернутую схему диагностики СКВ. При наличии по меньшей мере 4 из 11 критериев высока вероятность СКВ [8].

Антитела к дсДНК обнаруживаются в активной фазе СКВ, при этом их сывороточная концентрация обнаруживает положительную корреляцию с тяжестью заболевания. Возможно мониторирование проводимой терапии по концентрации этих антител. Диагностическая чувствительность определения антител к дсДНК при СКВ составляет примерно 91%, диагностическая специфичность - около 96%.

Антитела к ДНК подразделяются на 2 группы:

1. Антитела, которые связываются только с нативной двунитевой ДНК (дсДНК)
2. Антитела, которые также реагируют с однонитевой ДНК (осДНК).

Определение антинуклеарных антител (или антинуклеарного фактора) методом непрямой иммунофлуоресценции широко распространено в качестве скринингового метода диагностики СКВ. Однако на некоторых стадиях заболевания или на фоне проводимой терапии данный метод может давать ложные результаты, при этом требуется более специфичная тест-система. Негативный результат исследования антинуклеарных антител методом иммунофлуоресценции не исключает наличия антител к дсДНК, так как антигенные структуры могут быть замаскированы другими структурами. Более того, уровень антинуклеарных антител, определенный методом иммунофлуоресценции, обнаруживает только слабую корреляцию с тяжестью заболевания.

Большинство антител к дсДНК направлены против фосфатного компонента ДНК. Таким образом, эти антитела также реагируют с одиночными нитями ДНК. Для количественного определения антител к дсДНК необходимо, чтобы используемый антигенный препарат ДНК не был загрязнен однонитевой ДНК.

Антитела к однонитевой ДНК в основном направлены против нуклеотидного компонента, который в нативной ДНК скрывается внутри спиральной пространственной структуры молекулы. В сыворотке больных СКВ антитела к однонитевой ДНК обнаруживаются с частотой до 87% в активной фазе и до 43% в неактивной фазе.

СКВ также может быть обусловлена лекарственными препаратами. Для дифференциальной диагностики лекарственной волчанки используется определение антител к однонитевой ДНК. При данной патологии уровень антител к однонитевой ДНК повышается более чем в 50% случаев. Также данные антитела обнаруживают в сыворотке больных мононуклеозом, гепатитом и различными формами лейкемии.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты человеческой рекомбинантной однонитевой ДНК. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке. Антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 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.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит раствор фосфорной кислоты. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых человеческой рекомбинантной однонитевой ДНК (ssDNA). Готов для использования.	1
Стандарты комбинированные (A-F) с анти-ssDNA в сывороточно-буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие следующие концентрации: 0, 12.5, 25, 50, 100 и 200 Ед/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к однонитевой ДНК (1-положительный и 2-отрицательный) в сывороточно-буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов, желтый, ***концентрат (5x)***	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие анти-IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Соберите образец цельной крови стандартной венопункцией, избегая гемолиза.

1 Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием
2 Избегайте гемолиза, липемии или микробиологического загрязнения сыворотки
3 Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.
4 Для предотвращения повторных циклов замораживания-оттаивания (это может привести к потере активности антител) следует приготовить аликвоты образцов.
5 Все пробы сыворотки и плазмы должны быть разбавлены 1:100 буфером для образцов. Следовательно, 10 мкл образца могут быть разбавлены 1000 мкл буфера.
6 Использование для анализа инактивированной нагреванием сыворотки не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28^{o}C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре (20-28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного и положительного контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов

Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации и log-log координаты.

Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага.

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе при определении антител к двунитевой ДНК. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Стандарты (С)									
No	Лунка	ОП 1	ОП 2	Среднее	Конц 1 яч.	Конц 2 яч.	Среднее	Заявл. Конц.	CV %
CT1	A 1 / A 2	0.041	0.038	0.039	0.2	0.1	0.1	0.0	5
CT2	B 1 / B 2	0.333	0.323	0.328	12.7	12.3	12.5	12.5	2
CT3	C 1 / C 2	0.573	0.563	0.568	25	25	25	25	1
CT4	D 1 / D 2	0.961	0.957	0.959	51	50	50	50	0
CT5	E 1 /E 2	1.488	1.468	1.478	101	98	99	100	1
CT6	F 1 / F 2	2.085	2.081	2.083	201	200	200	200	0

Ожидаемые значения

При изучении нормального диапазона использовались образцы сыворотки из крови здоровых доноров, и был установлен следующий диапазон значений для антител против ssDNA:

	IgG -антитела к ssDNA, Ед/мл
Нормальный уровень:	< 20

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Повышенный уровень: ≥ 20

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к двуспиральной ДНК.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями IgG-антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы. Анализ был линеен во всем диапазоне измерения.

Воспроизводимость
Статистика для коэффициентов вариации (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии, воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	16	5.6
2	65	4.2
3	135	6.4

Между сериями		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	15	6.3
2	63	4.4
3	132	6.8

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Микропланшет покрыт рекомбинантной однонитевой ДНК. Новая технология сорбции сохраняет антигенную структуру молекул, а также исключает сорбцию двунитевой ДНК. Таким образом, тест специфичен только для аутоантител к ssDNA.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

КАЛИБРОВКА
Данный метод прокалиброван относительных единицах, так как не существует другого международного стандарта.

Ограничения метода
Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Отрицательный результат не исключает наличия СКВ.

Интерференции
Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

Литература
1. Condemi, John J. The Autoimmune Diseases. The Journal of the American Medical
Associason 1987; Vo. 258, no. 20: 2920 - 2929.
2. Harley, John B. and Gaither, Kimberley K. Autoantibodies. Rheumatic Disease Clincs of
Norht America 1988; Vo. 14, no. 1: 43 - 56.
3. Hartung, K, and Deicher, H. Systemischer Lupus erythematodes. Allergologie 1985;
Jahrgang 8, Nr. 7: 275 - 281.
4. Feltkamp, T. E. W. et al. The first international standard for antibodies to double stranded
DNA. Annals of the Rheumatic Diseases 1988; Vo. 47: 740 - 746.
5. Leon, S. A. et al. Avidity of Antibodies in SLE. Arthritis and Rheumatism 1977; Vo. 20, no.1:
23 - 29.
6. Smeenk, R. et al. Avidity of Antibodies to dsDNA: Comparison of IFT on Crithidia Luciliae,
Farr Assay andPEG Assay. The Journal of Immunology 1982, Vo. 128, no. 1: 73 - 78.
7. Smeenk, R. et al. Specificity in Systemic Lupus Erythematosus of Antibodies to doublestranded
DNA measured with the Polyethylene Glycol Precipitation Assay. Arthritis and Rheumatism 1982; Vo. 25, no. 6: 631 - 638.
8. Egner, W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. J. Clin. Pathol., 2000,
53:424-432.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
Антитела к однонитевой ДНК

Добавить	Контроли
100 µл стандарты в микроячейки	**100 µл** или пробы пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного конъюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**
Считать при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-SS-A 52

96 тестов
Кат. Номер ORG 652

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC Anti-SS-A 52 предназначен для количественного определения аутоантител класса IgG к антигену SS-A 52.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Ревматоидные аутоиммунные заболевания часто связаны с присутствием аутоантител к различным ядерным или цитоплазматическим антигенам. Эти так называемые антиядерные антитела можно разделить на три группы:

1. **истинные антиядерные антитела (ANA):**
   dsДНК, ssДНК, гистоны, ядерные РНК и ДНК
2. **экстрагируемые ядерные антигены:**
   Sm (Smith), n-RNP, Scl 70 и PM-1
3. **цитоплазматические антигены:**
   SS-A (Ro)*, SS-B (La)* и Jo-1

* SS-A (Ro) и SS-B (La) локализованы в цитоплазме и ядрах

У пациентов с синдромом Шегрена антитела к SS-A и SS-B часто встречаются в комбинации. Из-за сильной связи SS-A и SS-B антител к HLA-DR3 и DR2 фенотипам предполагается генетическая предрасположенность. Анти-SS-A-белок проходит через плаценту и может вызывать развитие неонатальной волчанки у новорожденных.

Иммунореактивные белки могут встречаться в различных комбинациях и связываться также с белками вирусного происхождения. Они индуцируют синтез поликлональных антител классов IgG, IgM и IgA. Была отмечена связь между смешанным заболеванием соединительной ткани и вирусной инфекцией вирусом Эпштейна-Барр.

Каждый класс иммуноглобулинов вызывает специфический иммунофлуоресцентный ответ. Титры иммунофлуоресценции в целом коррелируют с количеством IgG-антител, но концентрации могут значительно варьировать в пределах одного титра. Количество антител класса IgG сильно коррелирует с активностью болезни. Общепринята непрямая иммунофлуоресценция с использованием клеточной линии HEp-2. Тест иммунофлуоресценции с Crithidia lucilliae иногда приводит к отклонению значений.

На сегодняшний день наиболее изученными иммунореактивными антигенами являются двухспиральная ДНК (dsДНК), односпиральная ДНК (ssДНК), Sm (Smith), sn-RNP (малые частицы ядерных рибонуклеопротеинов), комплекс RNP/Sm, который стабилизируется рибонуклеиновой кислотой, а также SS-A (Ro) и SS-B (La). Антиген Scl 70, белок с молекулярным весом 70 kD, ассоциируется со склеродермой.

При ревматоидных аутоиммунных заболеваниях могут детектироваться различные профили аутоантител к этим антигенам. С высокой вероятностью они могут быть связаны с активной или неактивной системной эритемой, смешанным заболеванием соединительной ткани (СЗСТ) (синдромом Шарпа), ревматоидными артритами (РА), синдромом Шегрена, склеродермой, фоточувствительными дерматитами (ФД) и лекарственной волчанкой (ЛВ).

У пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) обычно могут быть детектированы анти-dsДНК. У пациентов без этих антител очень часто обнаруживают анти-ssДНК-, анти-SS-A- и анти-SS-B-антитела. Наблюдалась сильная корреляция между концентрацией антител и тяжестью заболевания с повышением концентрации антител в активную стадию. Количественной определение антител может быть более информативно, чем простое титрование в тесте иммунофлуоресценции.

Измерение анти-ssДНК обеспечивает дополнительную информацию о специфичности и активности антител. За исключением хронических воспалительных процессов анти-ssDNA-антитела не обнаруживаются у здоровых лиц.

Антитела определённого типа не специфичны только к одному заболеванию, но могут встречаться в различных комбинациях. Особенности нахождения различных комбинаций антител и их концентрации вместе с общей клинической картиной пациента - важный диагностический инструмент в оценке ревматоидных аутоиммунных заболеваний.

Следующая таблица дает краткую информацию о спектре аутоиммунных заболеваний, при которых встречаются те или иные комбинации антител. Она не предназначена для использования в качестве алгоритма исследования.

Частота, % / Забо-левание	Тип антител, антитела к …								
	ds-ДНК	ss-ДНК	Гис-тон	SS-A (Ro)	SS-B (La)	Sm	RNP/ Sm	Scl 70	Jo-1
СКВ	> 90	> 90	30-50	10-30	30-50	10-30	10-30		
ЛВ*		30-50	50-90						
Син-дром Шарпа/ СЗСТ	10-30	10-30					> 90		
РА		30-50	30-50	10-30					
Син-дром Шегрена	10-30	10-30		> 90	> 90				
Склеро-дерма	10-30	10-30		10-30				> 90	
ФД, ДМ**	10-30	10-30							50-90

*ЛВ - лекарственная волчанка, **ДМ – дерматомиозит

Цитируется по: Thomas, L. Autoantikörper gegen Organe, Gewebe und Thrombozyten. Labor und Diagnose 1992; Die Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg, 4. Auflage: 980 - 990.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокочистым SS-A 52. Присутствующие в разведенной сыворотке специфические антитела связываются с иммобилизованными в лунках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 8,9,10)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенным SS-A 52. Готов к использованию.	1
Стандарты анти-SS-A 52 (A-F) в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) содержат: 0; 12.5; 25; 50; 100 и 200 Ед/мл. Готовы к использованию.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли анти-SS-A 52 антител в PBS буфере/сыворотке (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)): отрицательный контроль (A), положительный контроль (C), диапазоны допустимых значений указаны в сертификате контроля качества, поставляемом в наборе. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN_3<0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат (5x)***.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного конъюгата (фосфатно-солевой буфер, PROCLIN 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***.	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.

Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °С по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°С.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28^{o}C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и предварительно разбавленных проб пациентов.

2. Добавьте в ячейки 100 мкл контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов в дублях.
3. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре (20 - 28 °С).
4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.
5. Добавьте 100 мкл раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.
8. Добавьте 100 мкл субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
10 Добавьте 100 мкл стоп-раствора в каждую ячейку и позвольте постоять 5 минут.
11.Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм негативного контроля (1), позитивного контроля (2) и калибраторов (A-F) полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах. Также возможно использование логарифмических координат и аппроксимации гладким сплайном.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании диапазона нормальных значений антител к кардиолипину в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

	Anti-SS-A 52 [Ед/мл]
нормальные:	< 15
пограничные:	15 - 25

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

повышенные: > 25

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к гистонам.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
Сыворотки с высокой концентрацией антител к SS-A 52 были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом Anti-SS-A 52. Метод показал линейность измерений на всем диапазоне измеряемых значений.

Воспроизводимость
Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	16.1	2.7
2	36.6	2.6
3	67.0	3.6

внутри серии		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	16.9	6.4
2	35.7	6.2
3	65.1	1.1

Чувствительность
Нижняя граница определения для антител к SS-A 52 = 0,5 Ед/мл.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Микропланшет покрыт высокочистым антигеном SS-A 52, очищенных методом аффинной хроматографии. Тест Anti-SSA 52 специфичен только для аутоантител к этому антигену. Перекрестных реакций не наблюдалось.

КАЛИБРОВКА
Тест-система прокалибрована в условных единицах.

Ограничения метода
Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Интерференции
Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

ЛИТЕРАТУРА

См. инструкцию на английском языке.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

ENAscreen

Добавить в микроячейки

100 µл контролей

100 µл проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Оставить на **5 минут**
Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-SS-A 60

96 тестов
Кат. Номер ORG 660

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC Anti-SS-A 60 предназначен для количественного определения аутоантител класса IgG к антигену SS-A 60.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Ревматоидные аутоиммунные заболевания часто связаны с присутствием аутоантител к различным ядерным или цитоплазматическим антигенам. Эти так называемые антиядерные антитела можно разделить на три группы:

1. **истинные антиядерные антитела (ANA):**
   dsДНК, ssДНК, гистоны, ядерные РНК и ДНК
2. **экстрагируемые ядерные антигены:**
   Sm (Smith), n-RNP, Scl 70 и PM-1
3. **цитоплазматические антигены:**
   SS-A (Ro)*, SS-B (La)* и Jo-1

* SS-A (Ro) и SS-B (La) локализованы в цитоплазме и ядрах

У пациентов с синдромом Шегрена антитела к SS-A и SS-B часто встречаются в комбинации. Из-за сильной связи SS-A и SS-B антител к HLA-DR3 и DR2 фенотипам предполагается генетическая предрасположенность. Анти-SS-A-белок проходит через плаценту и может вызывать развитие неонатальной волчанки у новорожденных.

Иммунореактивные белки могут встречаться в различных комбинациях и связываться также с белками вирусного происхождения. Они индуцируют синтез поликлональных антител классов IgG, IgM и IgA. Была отмечена связь между смешанным заболеванием соединительной ткани и вирусной инфекцией вирусом Эпштейна-Барр.

Каждый класс иммуноглобулинов вызывает специфический иммунофлуоресцентный ответ. Титры иммунофлуоресценции в целом коррелируют с количеством IgG-антител, но концентрации могут значительно варьировать в пределах одного титра. Количество антител класса IgG сильно коррелирует с активностью болезни. Общепринята непрямая иммунофлуоресценция с использованием клеточной линии HEp-2. Тест иммунофлуоресценции с Crithidia lucilliae иногда приводит к отклонению значений.

На сегодняшний день наиболее изученными иммунореактивными антигенами являются двухспиральная ДНК (dsДНК), односпиральная ДНК (ssДНК), Sm (Smith), sn-RNP (малые частицы ядерных рибонуклеопротеинов), комплекс RNP/Sm, который стабилизируется рибонуклеиновой кислотой, а также SS-A (Ro) и SS-B (La). Антиген Scl 70, белок с молекулярным весом 70 kD, ассоциируется со склеродермой.

При ревматоидных аутоиммунных заболеваниях могут детектироваться различные профили аутоантител к этим антигенам. С высокой вероятностью они могут быть связаны с активной или неактивной системной эритемой, смешанным заболеванием соединительной ткани (СЗСТ) (синдромом Шарпа), ревматоидными артритами (РА), синдромом Шегрена, склеродермой, фоточувствительными дерматитами (ФД) и лекарственной волчанкой (ЛВ).

У пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) обычно могут быть детектированы анти-dsДНК. У пациентов без этих антител очень часто обнаруживают анти-ssДНК-, анти-SS-A- и анти-SS-B-антитела. Наблюдалась сильная корреляция между концентрацией антител и тяжестью заболевания с повышением концентрации антител в активную стадию. Количественной определение антител может быть более информативно, чем простое титрование в тесте иммунофлуоресценции.

Измерение анти-ssДНК обеспечивает дополнительную информацию о специфичности и активности антител. За исключением хронических воспалительных процессов анти-ssDNA-антитела не обнаруживаются у здоровых лиц.

Антитела определённого типа не специфичны только к одному заболеванию, но могут встречаться в различных комбинациях. Особенности нахождения различных комбинаций антител и их концентрации вместе с общей клинической картиной пациента - важный диагностический инструмент в оценке ревматоидных аутоиммунных заболеваний.

Следующая таблица дает краткую информацию о спектре аутоиммунных заболеваний, при которых встречаются те или иные комбинации антител. Она не предназначена для использования в качестве алгоритма исследования.

Частота, % / Забо-левание	Тип антител, антитела к …								
	ds-ДНК	ss-ДНК	Гис-тон	SS-A (Ro)	SS-B (La)	Sm	RNP/ Sm	Scl 70	Jo-1
СКВ	> 90	> 90	30-50	10-30	30-50	10-30	10-30		
ЛВ*		30-50	50-90						
Син-дром Шарпа/ СЗСТ	10-30	10-30					> 90		
РА		30-50	30-50	10-30					
Син-дром Шегрена	10-30	10-30		> 90	> 90				
Склеро-дерма	10-30	10-30		10-30				> 90	
ФД, ДМ**	10-30	10-30							50-90

*ЛВ - лекарственная волчанка, **ДМ – дерматомиозит

Цитируется по: Thomas, L. Autoantikörper gegen Organe, Gewebe und Thrombozyten. Labor und Diagnose 1992; Die Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg, 4. Auflage: 980 - 990.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокочистым SS-A 60. Присутствующие в разведенной сыворотке специфические антитела связываются с иммобилизованными в лунках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 8,9,10)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенным SS-A 60. Готов к использованию.	1
Стандарты анти-SS-A 60 (A-F) в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) содержат: 0; 12.5; 25; 50; 100 и 200 Ед/мл. Готовы к использованию.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли анти-SS-A 60 антител в PBS буфере/сыворотке (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)): отрицательный контроль (A), положительный контроль (C), диапазоны допустимых значений указаны в сертификате контроля качества, поставляемом в наборе. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN_3<0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат (5x)***.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного конъюгата (фосфатно-солевой буфер, PROCLIN 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***.	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.

Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °С по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°С.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28^{o}C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и предварительно разбавленных проб пациентов.

2. Добавьте в ячейки 100 мкл контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов в дублях.
3. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре (20 - 28 °С).
4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.
5. Добавьте 100 мкл раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.
8. Добавьте 100 мкл субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
10 Добавьте 100 мкл стоп-раствора в каждую ячейку и позвольте постоять 5 минут.
11.Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм негативного контроля (1), позитивного контроля (2) и калибраторов (A-F) полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах. Также возможно использование логарифмических координат и аппроксимации гладким сплайном.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании диапазона нормальных значений антител к кардиолипину в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

	Anti-SS-A 60 [Ед/мл]
нормальные:	< 15
пограничные:	15 - 25

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

повышенные: > 25

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к гистонам.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
Сыворотки с высокой концентрацией антител к SS-A 60 были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом Anti-SS-A 60. Метод показал линейность измерений на всем диапазоне измеряемых значений.

Воспроизводимость
Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	14.7	3.1
2	33.3	2.7
3	69.1	3.2

внутри серии		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	17.3	5.9
2	31.9	6.3
3	62.3	1.8

Чувствительность
Нижняя граница определения для антител к SS-A 60 = 0,5 Ед/мл.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Микропланшет покрыт высокочистым антигеном SS-A 60, очищенных методом аффинной хроматографии. Тест Anti-SSA 60 специфичен только для аутоантител к этому антигену. Перекрестных реакций не наблюдалось.

КАЛИБРОВКА
Тест-система прокалибрована в условных единицах.

Ограничения метода
Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Интерференции
Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

ЛИТЕРАТУРА

См. инструкцию на английском языке.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

ENAscreen

Добавить в микроячейки	
100 µл контролей	**100 µл** проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Оставить на **5 минут**
Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-Intrinsic Factor

Кат. Номер ORG 647

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для количественного определения антител класса IgG к внутреннему фактору методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) в сыворотке и плазме человека. Метод предназначен только для диагностики *in vitro* в целях диагностики пернициозной анемии.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Болезнь Бирмера или пернициозная анемия разновидность анемии, наиболее частой причиной развития которой является дефицит витамина В 12 в организме в западной популяции, при которой наблюдаются классические признаки мегалобластной анемии (т.е. морфологические и функциональные изменения клеток крови и клеток-предшественников костного мозга, связанных со снижением синтеза ДНК) [1, 2, 3]. Она характеризуется дефектом слизистой желудка, при котором снижен синтез внутреннего фактора и выявляются антитела к париетальным клеткам желудка или к внутреннему фактору. Внутренний фактор человека – это гликопротеин, который синтезируется исключтельно париетальными клетками желудка. Он играет ключевую роль в абсорбции и транспорте витамина В12 в тонком кишечнике [4]. Существуют два типа аутоантител к внутреннему фактору [5]. Антитела типа I блокируют сайт связывания кобаламина на молекуле внутреннего фактора, препятствуя захвату витамина. Антитела типа II блокируют другой домен молекулы внутреннего фактора, который вовлечен в связывание комплекса внутренний фактор/кобаламин с подвздошными рецепторами. Оба типа антител обладают схожим патологическим эффектом, т.е. препятствуют ресорбции кобаламина подвздошными рецепторами. Аутоантитела к внутреннему фактору обнаруживаются у больных пернициозной анемией в 50 - 70% случаев и они очень специфичны именно для болезни Бирмера, не существует опубликованных данных об обнаружении положительных результатов у здоровых людей контрольной группы [6]. Набор ORGENTEC Anti-Intrinsic Factor ELISA определяет оба типа аутоантител, таким образом является полезным инструментом для дифференциальной диагностики пернициозной анемии и других случаев мальабсорбции витамина В12.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Анализ проводится в микропланшете, в лунках которого сорбирован рекомбинантный внутренний фактор. Присутствующие в образцах антитела связываются с иммобилизованными в микроячейках антигеном. При промывке удаляют не связавшиеся компоненты сыворотки. Конъюгат антител к IgG человека с пероксидазой хрена добавляется в ячейки и иммунологически связывается с аутоантителами из сывороток пациентов, связанных с иммобилизованными антигенами, в результате чего образуется комплекс конъюгат/антитело/антиген. Избыток ферментного конъюгата удаляется при следующей промывке. Раствор хромогенного субстрата в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты в качестве стоп-раствора, при этом Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого окрашивания определяют фотометрически при 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. 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 мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. Он способен образовывать взрывоопасные соединения при длительном контакте с медью или свинцом. При использовании реагентов, содержащих азид натрия необходимо наличие большого количества воды. Азид натрия может быть токсичен при попадании внутрь организма. В концентрациях, присутствующих в реагентах, он не токсичен. Несмотря на классификацию как не токсичного вещества, мы настоятельно рекомендуем следовать обычной лабораторной практике обращения с опасными веществами (см. 8., 9., 10).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При выливании реагентов, содержащих Proclin 300, необходимо смывать большим количеством воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
8. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9. Не отбирайте образцы ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции. Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых рекомбинантным внутренним фактором.	1
Стандарты с антителами к внутреннему фактору (A-F) в сывороточно/буферном (PBS/BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе, содержащие 0; 6,3; 12.5; 25; 50; 100 Ед/мл Готовы к использованию.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к внутреннему фактору в сывороточно-буферном (PBS/BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе, положительный (1) и отрицательный (2), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат 5***x	1 флакон 20 мл
Раствор (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готовы к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C в их оригинальной упаковке
2. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
4. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.
5. Разведенные буфер для промывок и буфер для образцов стабильны при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Вортекс
- Многоканальные пипетки или дозаторы на 100 мкл
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Лабораторный таймер
- программное обеспечение для анализа данных

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза. 2. отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Наносите все образцы на дно лунок
8. Для избежания переходящей контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
9. Для достижения наилучших результатов необходима тщательная промывка. После промывки тщательно удалите остатки буфера из лунок.
10. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
11. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.
12. Не используйте повторно стрипы микропланшета.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. С использованием этих концентраций может быть построена калибровочная кривая и проведена полуколичественная оценка образцов сывороток пациентов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8°C 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8°C 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление образцов

Разбавьте все образцы сывороток пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте.

Контроли и стандарты готовы к использованию и не требуют разбавления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов сыворотки или плазмы пациентов.
3. Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре (20-28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.
Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация: Тест-система ORGENTEC Anti-Intrinsic Factor ELISA может быть использована с открытым автоматизированным оборудованием для ELISA. Процедура теста, приведенная выше, применима как для ручного так и для автоматического исполнения.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1), Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и F полностью совпадают 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах. Также возможно использование логарифмических координат и аппроксимации сплайнами.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерения в дублях, и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов.

Примет расчетов

Стандарты									
No	Позиция	ОП 1	ОП 2	Среднее	Конц. 1	Конц. 2	Среднее	декл. конц.	CV %
ST1	A1 / B1	0.063	0.076	0.069	<Min	0.2	0.2	0.001	12.23
ST2	C1 / D1	0.185	0.197	0.191	11.0	12.1	12.1	1205	4.44
ST3	E1 / F1	0.361	0.412	0.387	25.8	30.0	30.0	25	9.33
ST4	G1 / H1	0.599	0.599	0.599	45.7	45.7	45.7	50	0
ST5	A2 / B2	1.202	1.222	1.212	105.5	106.7	106.7	100	1.17
ST6	C2 / D2	1.806	1.804	1.805	194.7	194.7	194.7	200	0.08

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании нормального диапазона значений антител к внутреннему фактору в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

	IgG [Ед/мл]
норма:	< 6
повышенные значения:	≥6

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к гистонам.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Воспроизводимость

Статистика для коэффициентов вариации (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 9 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии, воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 3 различных постановок по 24 определения каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	92,1	3,3
2	61,5	4,5
3	49,9	3,2

Между сериями		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	103,2	3,8
2	67,4	3,9
3	49,1	5,6

Чувствительность

Нижняя граница определения для антител к внутреннему фактору составляет 1 Ед/мл.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Микропланшет покрыт рекомбинантным внутренним фактором. Тест специфичен только по отношению к аутоантителам к внутреннему фактору.

КАЛИБРОВКА

Поскольку не существует международно признанного стандарта аутоантител к внутреннему фактору, тест-система прокалибрована в относительных единицах.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Тест-система ORGENTEC Anti-Intrinsic Factor ELISA может быть использована как часть диагностической процедуры при диагностике пернициозной анемии, но сама по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

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.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gleeson, P.A., and B.-H. Toh. Molecular targets in pernicious anaemia. Immun. Today, 1991, 12(7):233-238.
2. Beck, W.S.. Neuropsychatric Consequences of Cobalamin Deficiency. Adv. Inter. Med. 1991, 33-56.
3. OH R, Brown DL. Vitamin B12 deficiency. Am Fam Physician. 2003, 67(5): 979-986.
4. Seetharam, B., S. Bose, and N. Li. Cellular Import of Cobalamin (Vitamin B-12). J.Nutr., 1999, 129:1761-1764.
5. Schade, S.G., P.L. Feick, M.H. Imrie, and R.F. Schilling. In vitro studies on antibodies to intrinsic factor. Clin. Exp. Immunol. 1967, 2:399-413.
6. Carmel, R.. Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. Clin. Exp. Immunol., 1992, 89:74-77.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Антитела к внутреннему фактору

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

→ Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

→ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

→ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

→ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ

→ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

→ Выдержите **5 минут**

→ Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

ORGENTEC

CE

531_3

ORG 531 Anti-Parietal Cell

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Anti-Parietal Cell (Анти-Париетальные клетки) - это тест-система ELISA для количественного измерения аутоантител класса IgG против альфа- и бета-субъединиц H+/K+-АТФазы париетальных клеток в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики. Циркулирующие аутоантитела к париетальным клеткам желудка были обнаружены у пациентов с пернициозной анемией, наиболее распространенной причиной дефицита витамина B12 в западной популяции. Обнаружение этих антител является полезным инструментом в дифференциальной диагностике пернициозной анемии.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro	MICROPLATE	Микропланшет
	Производитель	CALIBRATOR A	Калибратор
REF	Номер по каталогу	CALIBRATOR B	Калибратор
Σ 96	Достаточно для 96 определений	CALIBRATOR C	Калибратор
LOT	Код партии	CALIBRATOR D	Калибратор
	Использовать до	CALIBRATOR E	Калибратор
2°C 8°C	Ограничение температуры	CALIBRATOR F	Калибратор
	Хранить вдали от солнечного света	CONTROL +	Контроль положительный
	Не использовать повторно	CONTROL −	Контроль отрицательный
	Дата изготовления	DILUENT	Дилюент
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC	CONJUGATE	Ферментный конъюгат
	Обратитесь к инструкции по применению	TMB	TMB Субстрат
531_3	Электронная Инструкция: версия	STOP	Стоп-реагент
		WASH	Промывочный буфер
		RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Высокоочищенная H+/K+-АТФаза париетальных клеток свиньи абсорбирована на поверхности микропланшетных лунок.
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами:
Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 531	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Код продукта на модуле: PAR
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 0 Ед/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 6,3 Ед/мл, содержащий антитела к париетальным клеткам в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 12,5 Ед/мл, содержащий антитела к париетальным клеткам в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 25 Ед/мл, содержащий антитела к париетальным клеткам в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 50 Ед/мл, содержащий антитела к париетальным клеткам в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F	1x 1.5 ml	Калибратор F 100 Ед/мл, содержащий антитела к париетальным клеткам в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 ml	Контроль положительный, содержащий антитела к париетальным клеткам в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA,детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий антитела к париетальным клеткам в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Дилюент P, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий античеловеческие IgG-антитела, меченные HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления.

Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.

- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.
Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

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

P1, ... Проба пациента A-F Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.
Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Калибровка

Эта система анализа откалибрована в условных единицах, поскольку для этого анализа не существует международного эталонного препарата.

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет 0 - 100 U/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off 10 U/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный: < 10 U/ml
Положительный: ≥ 10 U/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый U/ml	Ожидаемый U/ml	H/O [%]
1	1:100	91.2	91.2	100
.	1:200	45.9	45.6	101
.	1:400	21.9	22.8	96
.	1:800	11.1	11.4	97
2	1:100	68.4	68.4	100
.	1:200	33.7	34.2	99
.	1:400	16.8	17.1	98
.	1:800	8.5	8.6	99

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: 0.5 U/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.
Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	12.5	3.5
2	22.5	2.8
3	75.0	3.2

Анализ между сериями		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	12.0	4.2
2	20.5	3.7
3	85.9	2 6

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n Поз	%
Пернициозная анемия	85	63	74.1
Нормальная сыворотка человека	100	3	3.0

		Клинический Диагноз	
		Поз	Нег
ORG 531	Поз	63	3
	Нег	22	97
		85	100

185

Чувствительность: 74.1 %
Специфичность: 97.0 %
Общая достоверность: 86.5 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Приведенные выше патологические и нормальные референтные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Irvine, W. J.,Davies, S. H., Delamore, I. W., Williams, A. W. Immunological relationship between pernicious anemia and thyroid disease. Br. Med. J. 1962, pp. 454-456.
2. Taylor, K. B., Roitt, I. M., Doniach, D., Couchman, K. G., Shapland, C. Autoimmune phenomena in pernicious anemia: gastric antibodies. Br. Med. J. 1962, pp. 1347-1352.
3. Rabon, E. C. and Reuben M. A. The mechanism and structure of the gastric H+/K+-ATPase Annu. Rev. Physiol. 1990, No. 52, pp. 321-344
4. Pedersen, P. L. and Carfoli, E. Ion motive ATPases. I. Ubiquity properties and significance to cell function. Trends Biochem Sci 1987,No. 12, pp. 146-149.
5. Van Driel, I. R., Callaghan, J. M. Proton and potassium transport by H+/K+-ATPase. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 1995.
6. Irvine,W. J., Cullen, D. R., Mawhinney, H. Natural history of autoimmune achlorhydric atrophic gastritis. A 1-15 year follows up study. Lancet 1974, No. 2, pp. 482-485.
7. Whittingham, S., Mackay, I. R. Pernicious anemia and gastric atrophy. In: Rose, N. R., Mackay, I. R. eds. The Autoimmune Diseases. New York, Academic Press 1985, pp. 243-266.
8. Uibo, R., Krohn, K., Villako, K., Tammur, T., Tamm, A. The relationship of parietal cell, gastrin cell and thyroid autoantibodies to the state of the gastric mucosa in a population sample. Scand. J. Gastroenterol. 1984, No. 19, pp. 1075-1080.
9. Varis, K., Ihamako, T., Harkonen, M., Samloff, I. M., Siurala, M. Gastric morphology, function and immunology in first degree relatives of probands with pernicious anemia and controls. Scand. J. Gastroenterol. 1979, No. 14, pp. 129-139.
10. Lahner E, Annibale B: Pernicious anemia: new insights from a gastroenterological point of view. World J Gastroenterol. 2009, 15:5121-5128.
11. De Block CE, De L, I, Van Gaal LF: Autoimmune gastritis in type 1 diabetes: a clinically oriented review. J Clin. Endocrinol.Metab 2008, 93:363-371.
12. Jassel SV, Ardill JE, Fillmore D, Bamford KB, O'Connor FA, Buchanan KD: The rise in circulating gastrin with age is due to increases in gastric autoimmunity and Helicobacter pylori infection. QJM. 1999, 92:373-377.
13. Carmel R: Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. Clin.Exp.Immunol 1992, 89:74-77.
14. Burman P, Karlsson FA, Lööf L, Szesci PB, Borch K: H+,K+-ATPase Antibodies in Autoimmune Gastritis: Observations on the Development of Pernicious Anemia. J Gastroenterol 1991, 26:207-214.
15. Gleeson PA, Toh B-H: Molecular targets in pernicious anaemia. Immunology Today 1991, 12:233-238.

Уведомление для пользователя (Европейский союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль
Прежняя версия:*ORG 531_IFU_EN_QM113165_*2013-12-16_1.2 Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-Tissue Transglutaminase IgA

Кат. № ORG 540A

96 тестов

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор Anti-tissue Transglutaminase Screen (анти-тканевая трансглутаминаза Скрин) основан на непрямом твердофазном иммуноферментном методе (ELISA) и предназначен для одновременного количественного измерения и IgA классов аутоантител к тканевой трансглутаминазе (tTG) в сыворотке или плазме человека. Метод предназначен только для in vitro диагностики и может быть использован при диагностике целиакии и герпетиформного дерматита.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Впервые целиакия была описана Dr. Samuel Gee в 1888 году. Он отмечал недостаточный рост, патологический стул и вздутие живота как общие признаки болезни у детей. В 1950 годы, с появлением возможности проводить перорально биопсию слизистой, выявлены типичные аномалии слизистой тонкой кишки у пациентов с целиакией. У пациентов, страдающих этим заболеванием, наблюдается атрофия слизистой оболочки с резким укорочением ворсинок и гипертрофией крипт [1].

Больные целиакией могут страдать от диареи, различных желудочно-кишечных проблем, анемии, утомляемости, психиатрических расстройств, или заболевание может протекать бессимптомно. Клинические данные и исследование слизистой после установления безглютеновой диеты являются объективными признаками того, что энтеропатия индуцирована глутеном [2].

Диагностика целиакии основывается на обнаружении патологических изменений в тонком кишечнике при биопсии и позднее верифицируется с помощью безглютеновой диеты, то есть исключением из питания пшеницы, ячменя, ржи, овса и продуктов, содержащих их компоненты. Приблизительно 10% пациентов, особенно взрослым, для восстановления слизистой необходимы кортикостероиды в дополнение к исключению глютена из рациона. При отсутствии лечения у пациентов, страдающих целиакией, повышен риск развития лимфом или злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта.

Более того, даже при отсутствии клинических проявлений, нелеченая на протяжении длительного периода целиакия вызывает предрасположенность к другим аутоиммунным заболеваниям, таким как сахарный диабет, ревматоидные заболевания, аутоиммунный гепатит или тиреоидит.

Повышенная ассоциация целиакии с селективным IgA дефицитом является потенциальной причиной ложноотрицательных результатов анализа IgA. Таким образом, если предполагается целиакия, рекомендуется проводить тестирование аутоантител класса IgG.

Было показано, что фермент тканевая трансглутаминаза (tTG) является основной, если не единственной, мишенью для эндомизиальных антител. Уровень этих антител падает при соблюдении безглютеновой диеты, облегчая этим контроль соблюдения диеты. Анти-tTG IgA являются очень чувствительным маркером целиакии 95-100 % при специфичности 90-97 % [3, 4, 5, 6].

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты рекомбинантной тканевой трансглутаминазой. Антитела к этому антигену, присутствующие в разведенной сыворотке, связываются в лунках. При промывке ячеек удаляются все несвязавшиеся антитела. Пероксидаза хрена (HRP), конъюгированная с антителами к IgA человека иммунологически связывается с аутоантителами пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. При промывке ячеек удаляется весь несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением 1М соляной кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации и IgA антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие гепатита 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.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, Контроли, буфер для образцов и промывочный буфер) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN_3) в чистом виде очень токсичное и химически активное вещество. В тех концентрациях, в которых оно содержится в реагентах набора, оно не представляет опасности.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Несмотря на классификацию как неопасного вещества, производитель настоятельно рекомендует соблюдайте принятые правила работы в лаборатории (см. 8., 9., 10.)

7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, промывайте водопроводную систему большими количествами воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
8. При обращении с образцами или компонентами набора используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9. Не отбирайте образцы ртом.
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить.
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

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.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ
Набор рассчитан на постановку 96 определений.

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых рекомбинантной тканевой трансглутаминазой, готов к использованию	1
Комбинированные калибраторы с IgA классом антител к тканевой трансглутаминазе (A-F) в сывороточном/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)), содержащие: IgA: 0; 5; 10; 25; 75; и 200 Ед/мл. Готовы к использованию	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к тканевой трансглутаминазе в сывороточном/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)), положительный (1) и отрицательный (2), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат (5х).***	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи антитела IgA-IgG человека, меченые пероксидазой хрена. Готовы к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), ***концентрат (50х).***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ
1. Хранить набор при 2-8 °С.
2. Хранить микропланшет в тщательно закрытом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не нагревайте реагенты набора, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования набора.
5. Разведенные буфер для образцов и буфер для промывок стабильны не менее 30 дней при температуре 2-8 °С.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ
Оборудование
- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или многократный дозатор на 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для расчета результатов

Приготовление реагентов
- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ
1.Соберите образцы цельной крови, с использованием обычных техник, избегая гемолиза.
2.Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3.Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Гемолиза или липемии лучше избегать, но они не оказывают существенного влияния на анализ.
4.Образцы могут храниться при охлаждении до 2 – 8 °С по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°С.
5.Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания образцов сыворотки. Это может привести к потере активности аутоантител.
6.Тестирование инактивированных нагреванием образцов не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ
1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2.Не смешивайте и не заменяйте компоненты из разных лотов.
3. Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28 °С).
4. Приготовьте все реагенты до начала проведения анализа. После начала тестирования его надо проводить без остановок, для получения наиболее верных и постоянных результатов.
5.Выполняйте все этапы тестирования в том порядке, как это описано в данной инструкции.
6. Всегда используйте свежие разведения образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7. При внесении всех реагентов и образцов пипетируйте прямо на дно ячеек.
8. Для предотвращения загрязнения образцов меняйте наконечники перед внесением каждого следующего образца или контроля, используйте одноразовые наконечники.
9.Для получения лучших результатов очень важно тщательно промывать ячейки, и полностью удалять оставшиеся в ячейках капли буфера для промывок.
10. Строго соблюдайте время инкубаций.
11. Контроли следует анализировать как неизвестные образцы для проверки работы реагентов и набора.
12.Не используйте лунки повторно.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое каждого флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием. Готовый буфер для образцов хранится охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до истечения срока годности.

Приготовление буфера для промывок

Разбавьте содержимое каждого флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до истечения срока годности.

Приготовление образцов

Разведите все пробы пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте. Калибраторы и контроли готовы к использованию и не требуют разведения.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей, калибраторов и предварительно разбавленных проб пациентов
2. Добавьте по 100 мкл соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов, в дублях, в ячейки.
3. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре (20 - 28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте буфером для промывок, по 300 мкл на каждую промывку.

	1	2	3	4	5	6
A	SA	SE	P1	P5		
B	SA	SE	P1	P5		
C	SB	SF	P2	P..		
D	SB	SF	P2	P..		
E	SC	C1	P3			
F	SC	C1	P3			
G	SD	C2	P4			
H	SD	C2	P4			

SA-SF: стандарты от A до F
P1, P2...C: образцы сыворотки пациентов 1, 2 ...
C1: положительный контроль
C2: отрицательный контроль

5. Добавьте 100 мкл раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте буфером для промывок, по 300 мкл на каждую промывку.
8. Добавьте 100 мкл субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
10. Добавьте 100 мкл стоп-раствора в каждую ячейку и инкубируйте 5 минут при комнатной температуре.
11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.
Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор ORGENTEC Anti-tissue Transglutaminase Screen ELISA может быть использован с открытыми автоматическими ИФА анализаторами. Процедура анализа, описанная выше, пригодна для постановки вручную, и на автоматическом анализаторе.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест действителен только в том случае, если значения оптической плотности (ОП), при длине волны 450 нм, для положительного контроля (1) и для отрицательного контроля (2), а также для калибраторов A и F, находятся в соответствующих диапазонах, указанных в сертификате контроля качества, прилагаемом к каждому набору! Если какой-либо из этих критериев не выполнен, то результаты считаются недостоверными и тест должен быть повторен.

Расчет результатов

Для расчета результатов данного теста рекомендуется использовать 4-параметрическую регрессию и построение кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого калибратора по результатам измерения в дублях и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов.

Пример расчета результатов

Данные, приведенные ниже, показывают типичные результаты, полученные с помощью данного метода Anti-tissue Transglutaminase IgA ELISA. Эти данные предназначены только для иллюстрации и не должны быть использованы для расчета результатов какой-либо постановки.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

стандарты									
No.	лунка	ОП 1	ОП 2	Сред-нее	конц. 1	конц. 2	Сред-нее	Заявленная конц.	CV %
ST1	A 1/ B 1	0.023	0.021	0.022	0.0	0.0	0.0	0.0	9
ST2	C 1/ D 1	0.174	0.174	0.174	13	13	13	12	0
ST3	E 1/F 1	0.336	0.335	0.336	25	25	25	25	0
ST4	G 1/H 1	0.643	0.658	0.651	49	50	50	50	2
ST5	A 2/ B 2	1.172	1.173	1.173	101	101	101	100	0
ST6	C 2/ D 2	1.809	1.788	1.799	201	197	199	200	1

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании диапазона нормальных значений антител к трансглутаминазе в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

Антитела к трансглутаминазе

Cut-Off: 10 Ед/мл

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к кардиолиину.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

Сыворотки с высокой концентрацией антител к тканевой трансглутаминазе класса IgG и IgA были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом.

TTG	№ образца	разведение	**полученное** [Ед/мл]	ожидаемое [Ед/мл]	п/о, %
IgA	1	1:100	210.0		
		1:200	102.1	105.1	97
		1:400	55.3	57.6	96
		1:800	27.7	28.8	96
		1:1600	14.9	14.4	103
IgA	2	1:200	180.6		
		1:400	91.7	90.3	101
		1:800	47.2	45.2	104
		1:1600	21.8	22.6	97
		1:3200	11.8	11.3	104
		1:64000	6.1	5.7	110

Воспроизводимость

Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	35	4.8
2	87	5.4
3	155	6.1

Между сериями		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	37	5.2
2	82	6.9
3	158	6.3

Чувствительность

Нижняя граница определения для антител к тканевой трансглутаминазе была определена 1,0 Ед/мл

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Микропланшет покрыт рекомбинантной tTG. Данным методом распознаются только специфические аутоантитела IgA и IgG к тканевой трансглутаминазе.

КАЛИБРОВКА

Так как не существует международного референс-стандарта аутоантител к тканевой трансглутаминазе, аналитическая система калибруется в относительных условных единицах.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Данный набор Anti-tissue Transglutaminase IgA ELISA предназначен для диагностических целей. Однако окончательный диагноз не должен базироваться только на результатах одного теста, но должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

На результаты анализа не оказывал гемолиз (до 1000 мг/дл), липемия (до 3 г/дл триглицеридов) или присутствие билирубина (до 40 мг/дл) в сыворотке. Использование различных коагулянтов также не оказывало влияния. Однако, из практических соображений, не рекомендуется использовать сильно гемолизованные или липемичные образцы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dietrich W. et al.
Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of Celiac Disease Nature Medicine 1997; 3:797-801

2. Dietrich W. et al.
Autoantibodies to tissue transglutaminase as Predictors to Celiac Disease Gastroenterology 1998; 115:1317-1321

3. Schuppan D.
Current concepts ofceliac disease pathogenesis.
Gastroenterology 2000;Vol.n9(1) 234-242.

4. Trier J.S.
Celiac sprue
The New England Journal of Medicine 1991; 24:1709-1719

5. Walker Smith, J.A.etal.
Revised criteria for the diagnosis of celiac disease: Report of workinggroup of European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN).
Arch Diseases of Childhood 1990:65:909-911

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

IgA -антитела к тканевой трансглутаминазе

Добавить **100 µл** стандартов в микроячейки	Контроли **100 µл** контролей или проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**

Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-Tissue Transglutaminase IgG

Кат. № ORG 540G

96 тестов

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор Anti-tissue Transglutaminase Screen (анти-тканевая трансглутаминаза Скрин) основан на непрямом твердофазном иммуноферментном методе (ELISA) и предназначен для количественного измерения IgG классов аутоантител к тканевой трансглутаминазе (tTG) в сыворотке или плазме человека. Метод предназначен только для in vitro диагностики и может быть использован при диагностике целиакии и герпетиформного дерматита.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Впервые целиакия была описана Dr. Samuel Gee в 1888 году. Он отмечал недостаточный рост, патологический стул и вздутие живота как общие признаки болезни у детей. В 1950 годы, с появлением возможности проводить перорально биопсию слизистой, выявлены типичные аномалии слизистой тонкой кишки у пациентов с целиакией. У пациентов, страдающих этим заболеванием, наблюдается атрофия слизистой оболочки с резким укорочением ворсинок и гипертрофией крипт [1].

Больные целиакией могут страдать от диареи, различных желудочно-кишечных проблем, анемии, утомляемости, психиатрических расстройств, или заболевание может протекать бессимптомно. Клинические данные и исследование слизистой после установления безглютеновой диеты являются объективными признаками того, что энтеропатия индуцирована глутеном [2].

Диагностика целиакии основывается на обнаружении патологических изменений в тонком кишечнике при биопсии и позднее верифицируется с помощью безглютеновой диеты, то есть исключением из питания пшеницы, ячменя, ржи, овса и продуктов, содержащих их компоненты.

Приблизительно 10% пациентов, особенно взрослым, для восстановления слизистой необходимы кортикостероиды в дополнение к исключению глютена из рациона. При отсутствии лечения у пациентов, страдающих целиакией, повышен риск развития лимфом или злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта. Более того, даже при отсутствии клинических проявлений, нелеченая на протяжении длительного периода целиакия вызывает предрасположенность к другим аутоиммунным заболеваниям, таким как сахарный диабет, ревматоидные заболевания, аутоиммунный гепатит или тиреоидит.

Повышенная ассоциация целиакии с селективным IgA дефицитом является потенциальной причиной ложноотрицательных результатов анализа IgA. Таким образом, если предполагается целиакия, рекомендуется проводить тестирование аутоантител класса IgG.

Было показано, что фермент тканевая трансглутаминаза (tTG) является основной, если не единственной, мишенью для эндомизиальных антител. Уровень этих антител падает при соблюдении безглютеновой диеты, облегчая этим контроль соблюдения диеты. Анти-tTG IgA являются очень чувствительным маркером целиакии 95-100 % при специфичности 90-97 % [3, 4, 5, 6].

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты рекомбинантной тканевой трансглутаминазой. Антитела к этому антигену, присутствующие в разведенной сыворотке, связываются в лунках. При промывке ячеек удаляются все несвязавшиеся антитела. Пероксидаза хрена (HRP), конъюгированная с антителами к IgG человека иммунологически связывается с аутоантителами пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. При промывке ячеек удаляется весь несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие гепатита 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.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, Контроли, буфер для образцов и промывочный буфер) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN_3) в чистом виде очень токсичное и химически активное вещество. В тех концентрациях, в которых оно содержится в реагентах набора, оно не представляет опасности. Несмотря на классификацию как неопасного вещества, производитель настоятельно рекомендует соблюдайте принятые правила работы в лаборатории (см. 8., 9., 10.)
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, промывайте водопроводную систему большими количествами воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
8. При обращении с образцами или компонентами набора используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9. Не отбирайте образцы ртом.
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить.
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

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.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Набор рассчитан на постановку 96 определений.

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых рекомбинантной тканевой трансглутаминазой, готов к использованию	1
Комбинированные калибраторы с IgG классом антител к тканевой трансглутаминазе (A-F) в сывороточном/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)), содержащие: IgG: 0; 5; 10; 25; 75; и 200 Ед/мл. Готовы к использованию	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к тканевой трансглутаминазе в сывороточном/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)), положительный (1) и отрицательный (2), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат (5х).***	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи антитела IgG человека, меченые пероксидазой хрена. Готовы к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), ***концентрат (50х).***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить набор при 2-8 °С.
2. Хранить микропланшет в тщательно закрытом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не нагревайте реагенты набора, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования набора.
5. Разведенные буфер для образцов и буфер для промывок стабильны не менее 30 дней при температуре 2-8 °С.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или многократный дозатор на 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Программное обеспечение для расчета результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1.Соберите образцы цельной крови, с использованием обычных техник, избегая гемолиза.
2.Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3.Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Гемолиза или липемии лучше избегать, но они не оказывают существенного влияния на анализ.
4.Образцы могут храниться при охлаждении до 2 – 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.
5.Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания образцов сыворотки. Это может привести к потере активности аутоантител.
6.Тестирование инактивированных нагреванием образцов не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2.Не смешивайте и не заменяйте компоненты из разных лотов.
3. Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28 °C).
4. Приготовьте все реагенты до начала проведения анализа. После начала тестирования его надо проводить без остановок, для получения наиболее верных и постоянных результатов.
5.Выполняйте все этапы тестирования в том порядке, как это описано в данной инструкции.
6. Всегда используйте свежие разведения образцов.
7. При внесении всех реагентов и образцов пипетируйте прямо на дно ячеек.
8. Для предотвращения загрязнения образцов меняйте наконечники перед внесением каждого следующего образца или контроля, используйте одноразовые наконечники.
9.Для получения лучших результатов очень важно тщательно промывать ячейки, и полностью удалять оставшиеся в ячейках капли буфера для промывок.
10. Строго соблюдайте время инкубаций.
11. Контроли следует анализировать как неизвестные образцы для проверки работы реагентов и набора.
12.Не используйте лунки повторно.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое каждого флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием. Готовый буфер для образцов хранится охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до истечения срока годности.

Приготовление буфера для промывок

Разбавьте содержимое каждого флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до истечения срока годности.

Приготовление образцов

Разведите все пробы пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте. Калибраторы и контроли готовы к использованию и не требуют разведения.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей, калибраторов и предварительно разбавленных проб пациентов
2. Добавьте по 100 мкл соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов, в дублях, в ячейки.
3. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре (20 - 28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте буфером для промывок, по 300 мкл на каждую промывку.

	1	2	3	4	5	6
A	SA	SE	P1	P5		
B	SA	SE	P1	P5		
C	SB	SF	P2	P..		
D	SB	SF	P2	P..		
E	SC	C1	P3			
F	SC	C1	P3			
G	SD	C2	P4			
H	SD	C2	P4			

SA-SF: стандарты от A до F
P1, P2...C: образцы сыворотки пациентов 1, 2 ...
C1: положительный контроль
C2: отрицательный контроль

5. Добавьте 100 мкл раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте буфером для промывок, по 300 мкл на каждую промывку.
8. Добавьте 100 мкл субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
10. Добавьте 100 мкл стоп-раствора в каждую ячейку и инкубируйте 5 минут при комнатной температуре.
11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор ORGENTEC Anti-tissue Transglutaminase Screen ELISA может быть использован с открытыми автоматическими ИФА анализаторами. Процедура анализа, описанная выше, пригодна для постановки вручную, и на автоматическом анализаторе.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест действителен только в том случае, если значения оптической плотности (ОП), при длине волны 450 нм, для положительного контроля (1) и для отрицательного контроля (2), а также для калибраторов A и F, находятся в соответствующих диапазонах, указанных в сертификате контроля качества, прилагаемом к каждому набору! Если какой-либо из этих критериев не выполнен, то результаты считаются недостоверными и тест должен быть повторен.

Расчет результатов

Для расчета результатов данного теста рекомендуется использовать 4-параметрическую регрессию и построение кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого калибратора по результатам измерения в дублях и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов.

Пример расчета результатов

Данные, приведенные ниже, показывают типичные результаты, полученные с помощью данного метода Anti-tissue Transglutaminase IgA ELISA. Эти данные предназначены только для иллюстрации и не должны быть использованы для расчета результатов какой-либо постановки.

стандарты									
No.	лунка	ОП 1	ОП 2	Сред-нее	конц. 1	конц. 2	Сред-нее	Заявленная конц.	CV %
STA	A 1/B 1	0,087	0,084	0,086	0	0	0	0	2,5
STB	C 1/D 1	0,193	0,204	0,199	3,8	4,3	4,1	5	3,9
STC	E 1/F 1	0,346	0,346	0,346	10,4	10,4	10,4	10	0,0
STD	G1/H 1	0,583	0,587	0,585	22,2	22,4	22,3	25	0,5
STE	A 2/B 2	1,430	1,371	1,401	85,0	79,2	82,1	75	3,0
STF	C 2/D 2	2,182	2,190	2,186	192,4	194,0	193,2	200	0,3

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании диапазона нормальных значений антител к трансглутаминазе в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

Антитела к трансглутаминазе

Cut-Off: 10 Ед/мл

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к кардиолиину.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

Сыворотки с высокой концентрацией антител к тканевой трансглутаминазе класса IgG и IgA были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом.

TTG	№ образца	разведение	**полученное** [Ед/мл]	ожидаемое [Ед/мл]	п/о
IgG	1	1:100	196,9	200	98 %
		1:200	103,9	100	104 %
		1:400	49,0	50	98 %
		1:800	25,2	25	101 %
		1:1600	11,3	12,5	90 %
IgG	2	1:100	199,3	200	100 %
		1:200	100,8	100	101 %
		1:400	49,8	50	100 %
		1:800	25,8	25	103 %
		1:1600	11,7	12,5	94 %

Воспроизводимость

Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	22.1	3.0
2	39.9	3.8
3	69.2	4.3

Между сериями		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	23.3	8.1
2	40.1	4.7
3	71.3	7.0

Чувствительность
Нижняя граница определения для антител к тканевой трансглутаминазе была определена 1,0 Ед/мл

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Микропланшет покрыт рекомбинантной tTG. Данным методом распознаются только специфические аутоантитела IgG к тканевой трансглутаминазе.

КАЛИБРОВКА
Так как не существует международного референс-стандарта аутоантител к тканевой трансглутаминазе, аналитическая система калибруется в относительных условных единицах.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Данный набор Anti-tissue Transglutaminase IgA ELISA предназначен для диагностических целей.

Однако окончательный диагноз не должен базироваться только на результатах одного теста, но должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ
На результаты анализа не оказывал гемолиз (до 1000 мг/дл), липемия (до 3 г/дл триглицеридов) или присутствие билирубина (до 40 мг/дл) в сыворотке. Использование различных коагулянтов также не оказывало влияния. Однако, из практических соображений, не рекомендуется использовать сильно гемолизованные или липемичные образцы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dietrich W. et al.
Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of Celiac Disease Nature Medicine 1997; 3:797-801

2. Dietrich W. et al.
Autoantibodies to tissue transglutaminase as Predictors to Celiac Disease Gastroenterology 1998; 115:1317-1321

3. Schuppan D.
Current concepts ofceliac disease pathogenesis.
Gastroenterology 2000;Vol.n9(1) 234-242.

4. Trier J.S.
Celiac sprue
The New England Journal of Medicine 1991; 24:1709-1719

5. Walker Smith, J.A.etal.
Revised criteria for the diagnosis of celiac disease: Report of workinggroup of European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN).
Arch Diseases of Childhood 1990:65:909-911

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

IgG -антитела к тканевой трансглутаминазе

Добавить **100 µл** стандартов в микроячейки	Контроли **100 µл** контролей или проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**

Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-Tissue Transglutaminase Screen

Кат. № ORG 540S

96 тестов

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор Anti-tissue Transglutaminase Screen (анти-тканевая трансглутаминаза Скрин) основан на непрямом твердофазном иммуноферментном методе (ELISA) и предназначен для одновременного количественного измерения IgG и IgA классов аутоантител к тканевой трансглутаминазе (tTG) в сыворотке или плазме человека. Метод предназначен только для in vitro диагностики и может быть использован при диагностике целиакии и герпетиформного дерматита.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Впервые целиакия была описана Dr. Samuel Gee в 1888 году. Он отмечал недостаточный рост, патологический стул и вздутие живота как общие признаки болезни у детей. В 1950 годы, с появлением возможности проводить перорально биопсию слизистой, выявлены типичные аномалии слизистой тонкой кишки у пациентов с целиакией. У пациентов, страдающих этим заболеванием, наблюдается атрофия слизистой оболочки с резким укорочением ворсинок и гипертрофией крипт [1].

Больные целиакией могут страдать от диареи, различных желудочно-кишечных проблем, анемии, утомляемости, психиатрических расстройств, или заболевание может протекать бессимптомно. Клинические данные и исследование слизистой после установления безглютеновой диеты являются объективными признаками того, что энтеропатия индуцирована глутеном [2].

Диагностика целиакии основывается на обнаружении патологических изменений в тонком кишечнике при биопсии и позднее верифицируется с помощью безглютеновой диеты, то есть исключением из питания пшеницы, ячменя, ржи, овса и продуктов, содержащих их компоненты.

Приблизительно 10% пациентов, особенно взрослым, для восстановления слизистой необходимы кортикостероиды в дополнение к исключению глютена из рациона. При отсутствии лечения у пациентов, страдающих целиакией, повышен риск развития лимфом или злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта. Более того, даже при отсутствии клинических проявлений, нелеченая на протяжении длительного периода целиакия вызывает предрасположенность к другим аутоиммунным заболеваниям, таким как сахарный диабет, ревматоидные заболевания, аутоиммунный гепатит или тиреоидит.

Повышенная ассоциация целиакии с селективным IgA дефицитом является потенциальной причиной ложноотрицательных результатов анализа IgA. Таким образом, если предполагается целиакия, рекомендуется проводить тестирование аутоантител класса IgG.

Было показано, что фермент тканевая трансглутаминаза (tTG) является основной, если не единственной, мишенью для эндомизиальных антител. Уровень этих антител падает при соблюдении безглютеновой диеты, облегчая этим контроль соблюдения диеты. Анти-tTG IgA являются очень чувствительным маркером целиакии 95-100 % при специфичности 90-97 % [3, 4, 5, 6].

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты рекомбинантной тканевой трансглутаминазой. Антитела к этому антигену, присутствующие в разведенной сыворотке, связываются в лунках. При промывке ячеек удаляются все несвязавшиеся антитела. Пероксидаза хрена (HRP), конъюгированная с антителами к IgG и IgA человека иммунологически связывается с аутоантителами пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. При промывке ячеек удаляется весь несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением 1M соляной кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации IgG и IgA антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие гепатита 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.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, Контроли, буфер для образцов и промывочный буфер) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN_3) в чистом виде очень токсичное и химически активное вещество. В тех концентрациях, в которых оно содержится в реагентах набора, оно не представляет опасности. Несмотря на классификацию как неопасного вещества, производитель настоятельно рекомендует соблюдайте принятые правила работы в лаборатории (см. 8., 9., 10.)
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, промывайте водопроводную систему большими количествами воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
8. При обращении с образцами или компонентами набора используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9. Не отбирайте образцы ртом.
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить.
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

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.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Набор рассчитан на постановку 96 определений.

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых рекомбинантной тканевой трансглутаминазой, готов к использованию	1
Комбинированные калибраторы с IgG и IgA классами антител к тканевой трансглутаминазе (A-F) в сывороточном/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)), содержащие: IgG: 0; 5; 10; 25; 75 и 200 Ед/мл и IgA: 0; 5; 10; 25; 75; и 200 Ед/мл. Готовы к использованию	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к тканевой трансглутаминазе в сывороточном/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)), положительный (1) и отрицательный (2), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат (5х).***	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи антитела к IgG и IgA человека, меченые пероксидазой хрена. Готовы к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), ***концентрат (50х).***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить набор при 2-8 °С.
2. Хранить микропланшет в тщательно закрытом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не нагревайте реагенты набора, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования набора.
5. Разведенные буфер для образцов и буфер для промывок стабильны не менее 30 дней при температуре 2-8 °С.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или многократный дозатор на 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для расчета результатов

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1.Соберите образцы цельной крови, с использованием обычных техник, избегая гемолиза.
2.Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3.Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Гемолиза или липемии лучше избегать, но они не оказывают существенного влияния на анализ.
4.Образцы могут храниться при охлаждении до 2 – 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.
5.Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания образцов сыворотки. Это может привести к потере активности аутоантител.
6.Тестирование инактивированных нагреванием образцов не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2.Не смешивайте и не заменяйте компоненты из разных лотов.
3. Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28 °C).
4. Приготовьте все реагенты до начала проведения анализа. После начала тестирования его надо проводить без остановок, для получения наиболее верных и постоянных результатов.
5.Выполняйте все этапы тестирования в том порядке, как это описано в данной инструкции.
6. Всегда используйте свежие разведения образцов.
7. При внесении всех реагентов и образцов пипетируйте прямо на дно ячеек.
8. Для предотвращения загрязнения образцов меняйте наконечники перед внесением каждого следующего образца или контроля, используйте одноразовые наконечники.
9.Для получения лучших результатов очень важно тщательно промывать ячейки, и полностью удалять оставшиеся в ячейках капли буфера для промывок.
10. Строго соблюдайте время инкубаций.
11. Контроли следует анализировать как неизвестные образцы для проверки работы реагентов и набора.
12.Не используйте лунки повторно.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое каждого флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием. Готовый буфер для образцов хранится охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до истечения срока годности.

Приготовление буфера для промывок

Разбавьте содержимое каждого флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до истечения срока годности.

Приготовление образцов

Разведите все пробы пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте. Калибраторы и контроли готовы к использованию и не требуют разведения.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей, калибраторов и предварительно разбавленных проб пациентов
2. Добавьте по 100 мкл соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов, в дублях, в ячейки.
3. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре (20 - 28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте буфером для промывок, по 300 мкл на каждую промывку.

	1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*
A	**SA**	**SE**	**P1**	**P5**		
B	**SA**	**SE**	**P1**	**P5**		
C	**SB**	**SF**	**P2**	**P..**		
D	**SB**	**SF**	**P2**	**P..**		
E	**SC**	**C1**	**P3**			
F	**SC**	**C1**	**P3**			
G	**SD**	**C2**	**P4**			
H	**SD**	**C2**	**P4**			

SA-SF: стандарты от A до F
P1, P2...C: образцы сыворотки пациентов 1, 2 ...
C1: положительный контроль
C2: отрицательный контроль

5. Добавьте 100 мкл раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте буфером для промывок, по 300 мкл на каждую промывку.
8. Добавьте 100 мкл субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
10. Добавьте 100 мкл стоп-раствора в каждую ячейку и инкубируйте 5 минут при комнатной температуре.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.
Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация
Набор ORGENTEC Anti-tissue Transglutaminase Screen ELISA может быть использован с открытыми автоматическими ИФА анализаторами. Процедура анализа, описанная выше, пригодна для постановки вручную, и на автоматическом анализаторе.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества
Тест действителен только в том случае, если значения оптической плотности (ОП), при длине волны 450 нм, для положительного контроля (1) и для отрицательного контроля (2), а также для калибраторов A и F, находятся в соответствующих диапазонах, указанных в сертификате контроля качества, прилагаемом к каждому набору! Если какой-либо из этих критериев не выполнен, то результаты считаются недостоверными и тест должен быть повторен.

Расчет результатов
Для расчета результатов данного теста рекомендуется использовать 4-параметрическую регрессию и построение кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах
Рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого калибратора по результатам измерения в дублях и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов.

Пример расчета результатов
Данные, приведенные ниже, показывают типичные результаты, полученные с помощью данного метода Anti-tissue Transglutaminase Screen ELISA. Эти данные предназначены только для иллюстрации и не должны быть использованы для расчета результатов какой-либо постановки.

стандарты									
No.	лунка	ОП 1	ОП 2	Сред-нее	конц. 1	конц. 2	Сред-нее	Заявленная конц.	CV %
STA	A 1/B 1	0,017	0,018	0,018	0,001	0,001	0	0	4,0
STB	C 1/D 1	0,166	0,156	1,161	5,3	4,9	5,1	5	4,4
STC	E 1/F 1	0,272	0,299	0,285	9,6	10,8	10,2	10	6,7
STD	G1/H 1	0,645	0,614	0,630	27,1	25,5	26,3	25	3,5
STE	A 2/B 2	1,314	1,393	1,354	69,0	75,1	72,1	75	4,1
STF	C 2/D 2	2,481	2,437	2,487	201,9	203,8	202,8	200	1,3

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании диапазона нормальных значений в образцах сыворотки у здоровых доноров с использованием данного теста были получены следующие значения:
нормальные: < 15
положительные: ≥ 15

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории устанавливать свои собственные нормальные и патологические диапазоны сывороточных антител к тканевой трансглутаминазе. Приведенные выше значения могут использоваться только в качестве ориентировочных.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
Сыворотки с высокой концентрацией антител к тканевой трансглутаминазе класса IgG и IgA были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом.

TTG	№ образца	разведение	**полученное** [Ед/мл]	ожидаемое [Ед/мл]	п/о
Скрин	1	1:200	13,2		
		1:400	7,5	6,6	88 %
		1:800	3,6	3,3	92 %
		1:1600	1,4	1,65	118 %
Скрин	2	1:200	58,6		
		1:400	31,4	29,3	93 %
		1:800	16,6	14,6	88%
		1:1600	7,0	7,3	104%

Воспроизводимость
Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Внутри серии		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	19,7	2,7
2	38,9	3,2
3	74,8	2,7
4	142,8	4,0

Между сериями		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	19,3	10,3
2	35,8	6,0
3	69,3	7.7
4	137,9	6,1

Чувствительность
Нижняя граница определения для антител к тканевой трансглутаминазе была определена 1,0 Ед/мл

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Микропланшет покрыт рекомбинантной tTG. Данным методом распознаются только специфические аутоантитела IgA и IgG к тканевой трансглутаминазе.

КАЛИБРОВКА
Так как не существует международного референс-стандарта аутоантител к тканевой трансглутаминазе, аналитическая система калибруется в относительных условных единицах.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Данный набор Anti-tissue Transglutaminase Screen ELISA предназначен для диагностических целей.

Однако окончательный диагноз не должен базироваться только на результатах одного теста, но должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ
На результаты анализа не оказывал гемолиз (до 1000 мг/дл), липемия (до 3 г/дл триглицеридов) или присутствие билирубина (до 40 мг/дл) в сыворотке. Использование различных коагулянтов также не оказывало влияния. Однако, из практических соображений, не рекомендуется использовать сильно гемолизованные или липемичные образцы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dietrich W. et al.
Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of Celiac Disease Nature Medicine 1997; 3:797-801

2. Dietrich W. et al.
Autoantibodies to tissue transglutaminase as Predictors to Celiac Disease Gastroenterology 1998; 115:1317-1321

3. Schuppan D.
Current concepts ofceliac disease pathogenesis.
Gastroenterology 2000;Vol.n9(1) 234-242.

4. Trier J.S.
Celiac sprue
The New England Journal of Medicine 1991; 24:1709-1719

5. Walker Smith, J.A.etal.
Revised criteria for the diagnosis of celiac disease: Report of workinggroup of European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN).
Arch Diseases of Childhood 1990:65:909-911

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Добавить **100 µл** стандартов в микроячейки	Контроли **100 µл** контролей или проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**

Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-DGP IgA
96 тестов

Кат. № ORG 551A

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный метод Anti-DGP IgA предназначен для количественного определения IgA аутоантител к DGP в человеческой сыворотке методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Набор предназначен только для диагностики in vitro у пациентов с предполагаемым диагнозом целиакия.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Целиакия (синонимы: глютеновая болезнь, гдютеновая энтеропатия, глютеночувствительная целиакия) – это энтеропатия, при которой развивается воспаление и атрофия ворсинок тонкого кишечника. В патогенезе этого заболевания лежит непереносимость глютена. Заболевание сопровождается аутоиммунным процессом, запускающимся и сохраняющимся у людей с генетической предрасположенностью при приеме пищи, содержащей глютен (пшеница, рожь, ячмень и т.д..)[1] [2].

Целиакия встречается у примерно 1% населения, в любом возрасте [3] [4], и часто остается недиагностированным из-за большого различия симптомов. Кроме типичных клинических предъявлений целиакии, таких как признаки синдрома мальабсорбции (хроническая диарея, метеоризм, потеря веса и т.д.), с ней часто ассоциированы нетипичные заболевания или симптомы, такие как герпетиформный дегматит, диабет 1 типа, остеопороз, некоторые лимфомы, дефицит железа, хроническая усталость, невынашиваемость. Иногда симптомы плохо выражены или отсутствуют [5] [6].

Патогенез целиакии до конца еще не ясен. После всасывания глиадин (из глютена) диамидируется тканевой трансглутаминазой (tTG) в собственной пластинке слизистой оболочки кишечника, что приводит к замещению остатков глутамина остатками глутаминовой кислоты. Фрагменты глиадина (диамидированные пептиды глиадина) связываются с молекулами HLA антигенпрезентирующих клеток, где они распознаются соответствующими Т-хелперными клетками. В В результате этого процесса развивается иммунный ответ и образуются антитела к DGP, дополнительно к антителам, образующимся к tTG [7] [8]. Определение этих антител (IgA, IgG) может быть использовано, совместно с клиническими наблюдениями и другими лабораторными исследованиями для постановки диагноза целиакии.

ИФА методы, основанные на использовании нативного белка в качестве антигена для выявления антител к глиадину, обладают не очень высокой диагностической точностью. В отличии от других методов, данный метод основан на использовании эпитопов диамидированных пептидов глиадина (DGP) в качестве антигена, что обеспечило данному методу исключительно высокую диагностическую значимость [9] [10]. В сыворотке больных целиакией выявляются оба класса антител, и IgA, и IgG к глиадину [11]. Так как у значительной части больных наблюдается дефицит IgA [12], чувствительный скрининг групп риска включает определение и IgA, и IgG антител. С помощью определения IgA антител можно оценить активность заболевания и мониторировать соблюдение безглютеновой диеты [13].

ПРИНЦИП МЕТОДА

Лунки планшета покрыты диамидированными пептидами глиадина. Антитела к этому антигену, присутствующие в разведенной сыворотке или плазме, связываются в лунках. При промывке ячеек удаляются все несвязавшиеся антитела. Пероксидаза хрена (HRP), конъюгированная с антителами к IgA человека иммунологически связывается с аутоантителами пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. При промывке ячеек удаляется весь несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации IgA антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. 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.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов и буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN3) является высоко токсичным веществом и реактивен в чистом виде. В концентрациях, присутствующих в наборе (0.09%), он не опасен. Несмотря на лассификацию как не опасное вещество,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

рекомендуется соблюдать правила хорошей лабораторной практики (см. 8., 9., 10.).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, тщательно промывайте водопроводную систему большим количеством воды, для разведения ниже активного уровня.
8. При работе с образцами и реагентами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.
Соблюдайте руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенными DGP. Готов для использования.	1
Комбинированные калибраторы (A-F) с антителами к -DGP класса IgA в фосфатно-белковом матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) содержащие: 0, 6.3, 12.5, 25, 50, 100 Ед/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к DGP в фосфатно-белковом матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) (положительный и отрицательный), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат (5x)***. Готов для использования.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ
1. Храните набор при 2-8 °C.
2. Храните микропланшет запечетанным, в сухом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергайте реагенты нагреванию, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования.
5. Разведенный буфер для обраразцов и буфер для промывок стабильны в течений 30 дней при хранении при 2-8 °C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ
Оборудование
- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для обработки результатов

Приготовление реагентов
- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ
1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ
1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2. Не заменяйте компоненты набора реагентами из других лотов.
3. Все материалы должны достичь комнатной температуры (20-28 °C) перед тестированием.
4. Перед началом анализа подготовьте все реагнты и образцы. После начала процедуры анализа должны выполняться без остановок, для получения наиболее достоверных и точных результатов.
5. Выполняйте все шаги анализа только в полном соответствии с данной инструкцией.
6. Всегд используйте свежие разведения образцов.
7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
8. Чтобы избежать перекрестной контаминации меняйте наконечники перед нанесением каждого образца и контроля.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9. Для достижения наиболее точных результатов очень важно тщательно промывать лунки микропланшета и удалить после промывки весь промывочный буфер из лунок.
10. Все инкубации должны проводиться строго в течение указанного времени.
11. Контрольные сыворотки или пулы должны тестироваться при каждой постановке, также, как и образцы, для проверки качества используемых реагентов и выполняемого анализа.
12. Не используйте лунки микропланшета повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации, можно построить калибровочную кривую, для получения полуколичественных результатов для тестируемых образцов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей (К), калибраторов (С) и предварительно разбавленных проб пациентов (Р) в дублях.

2. Для определения одного класса антител добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов в ячейки.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20 - 28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного раствора.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты.

Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Контроль качества

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1), Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и F полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерений в дублях, и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные средние значения ОП стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах.

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При исследовании нормального диапазона значений антител к DGP с использованием данного теста у здоровых доноров получены следующие значения:

	Антитела к DGP [Ед/мл]
нормальный уровень	<10
повышенный уровень	≥10

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории устанавливать свои собственные нормальные и патологические диапазоны сывороточных антител к DGP. Приведенные выше значения могут использоваться только в качестве ориентировочных.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
Сыворотки с высокой концентрацией антител к DGP были разведены буфером для образцов и проанализированы. Результаты анализа были линейны во всем измеряемом диапазоне.

Воспроизводимость
Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 2 различных опытов по 16 определений каждого из трех образцов:

Анти-DGP		
Внутри серии		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	28.9	5.0
2	55.0	6.5
3	75.1	5.7

Анти-DGP		
между сериями		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	65.3	4.1
2	87.4	8.1
3	29.6	2.3
4	4.7	6.1

Чувствительность
Нижняя граница определения для антител к DGP класса IgA – 0.5 Ед/мл.

Специфичность
Микропланшет покрыт высокоочищенными DGP. Данный набор специфичен для аутоантител к DGP.

Калибровка
Так как не существует международного стандарта анти-DGP антител, данный метод прокалиброван в условных единицах.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Тест-система ORGENTEC Anti-DGP IgA может быть использована как часть диагностической процедуры, но сама по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

Интерференции
Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

ЛИТЕРАТУРА
См. инструкцию на английском языке.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Антитела к DGP

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

↓

Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

↓

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

↓

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

↓

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Добавьте **100 мкл** раствора субстрата

↓

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

↓

Выдержите **5 минут**

↓

Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-DGP IgG
96 тестов

Кат. № ORG 551G

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный метод Anti-DGP IgG предназначен для количественного определения IgG аутоантител к DGP в человеческой сыворотке методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Набор предназначен только для диагностики in vitro у пациентов с предполагаемым диагнозом целиакия.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Целиакия (синонимы: глютеновая болезнь, гдютеновая энтеропатия, глютеночувствительная целиакия) – это энтеропатия, при которой развивается воспаление и атрофия ворсинок тонкого кишечника. В патогенезе этого заболевания лежит непереносимость глютена. Заболевание сопровождается аутоиммунным процессом, запускающимся и сохраняющимся у людей с генетической предрасположенностью при приеме пищи, содержащей глютен (пшеница, рожь, ячмень и т.д..)[1] [2].

Целиакия встречается у примерно 1% населения, в любом возрасте [3] [4], и часто остается недиагностированным из-за большого различия симптомов. Кроме типичных клинических предъявлений целиакии, таких как признаки синдрома мальабсорбции (хроническая диарея, метеоризм, потеря веса и т.д.), с ней часто ассоциированы нетипичные заболевания или симптомы, такие как герпетиформный дегматит, диабет 1 типа, остеопороз, некоторые лимфомы, дефицит железа, хроническая усталость, невынашиваемость. Иногда симптомы плохо выражены или отсутствуют [5] [6].

Патогенез целиакии до конца еще не ясен. После всасывания глиадин (из глютена) диамидируется тканевой трансглутаминазой (tTG) в собственной пластинке слизистой оболочки кишечника, что приводит к замещению остатков глутамина остатками глутаминовой кислоты. Фрагменты глиадина (диамидированные пептиды глиадина) связываются с молекулами HLA антигенпрезентирующих клеток, где они распознаются соответствующими Т-хелперными клетками. В В результате этого процесса развивается иммунный ответ и образуются антитела к DGP, дополнительно к антителам, образующимся к tTG [7] [8]. Определение этих антител (IgA, IgG) может быть использовано, совместно с клиническими наблюдениями и другими лабораторными исследованиями для постановки диагноза целиакии.

ИФА методы, основанные на использовании нативного белка в качестве антигена для выявления антител к глиадину, обладают не очень высокой диагностической точностью. В отличии от других методов, данный метод основан на использовании эпитопов диамидированных пептидов глиадина (DGP) в качестве антигена, что обеспечило данному методу исключительно высокую диагностическую значимость [9] [10]. В сыворотке больных целиакией выявляются оба класса антител, и IgA, и IgG к глиадину [11]. Так как у значительной части больных наблюдается дефицит IgA [12], чувствительный скрининг групп риска включает определение и IgA, и IgG антител. С помощью определения IgA антител можно оценить активность заболевания и мониторировать соблюдение безглютеновой диеты [13].

ПРИНЦИП МЕТОДА

Лунки планшета покрыты диамидированными пептидами глиадина. Антитела к этому антигену, присутствующие в разведенной сыворотке или плазме, связываются в лунках. При промывке ячеек удаляются все несвязавшиеся антитела. Пероксидаза хрена (HRP), конъюгированная с антителами к IgG человека иммунологически связывается с аутоантителами пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. При промывке ячеек удаляется весь несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. 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.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов и буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN3) является высоко токсичным веществом и реактивен в чистом виде. В концентрациях, присутствующих в наборе (0.09%), он не опасен. Несмотря на лассификацию как не опасное вещество,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

рекомендуется соблюдать правила хорошей лабораторной практики (см. 8., 9., 10.).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, тщательно промывайте водопроводную систему большим количеством воды, для разведения ниже активного уровня.
8. При работе с образцами и реагентами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.
Соблюдайте руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенными DGP. Готов для использования.	1
Комбинированные калибраторы (A-F) с антителами к -DGP класса IgG в фосфатно-белковом матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) содержащие: 0, 6.3, 12.5, 25, 50, 100 Ед/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к DGP в фосфатно-белковом матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) (положительный и отрицательный), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат (5x)***. Готов для использования.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ
1. Храните набор при 2-8 °C.
2. Храните микропланшет запечетанным, в сухом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергайте реагенты нагреванию, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования.
5. Разведенный буфер для обраразцов и буфер для промывок стабильны в течений 30 дней при хранении при 2-8 °C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ
Оборудование
- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для обработки результатов

Приготовление реагентов
- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ
1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ
1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2. Не заменяйте компоненты набора реагентами из других лотов.
3. Все материалы должны достичь комнатной температуры (20-28 °C) перед тестированием.
4. Перед началом анализа подготовьте все реагнты и образцы. После начала процедуры анализа должны выполняться без остановок, для получения наиболее достоверных и точных результатов.
5. Выполняйте все шаги анализа только в полном соответствии с данной инструкцией.
6. Всегд используйте свежие разведения образцов.
7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
8. Чтобы избежать перекрестной контаминации меняйте наконечники перед нанесением каждого образца и контроля.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9. Для достижения наиболее точных результатов очень важно тщательно промывать лунки микропланшета и удалить после промывки весь промывочный буфер из лунок.
10. Все инкубации должны проводиться строго в течение указанного времени.
11. Контрольные сыворотки или пулы должны тестироваться при каждой постановке, также, как и образцы, для проверки качества используемых реагентов и выполняемого анализа.
12. Не используйте лунки микропланшета повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации, можно построить калибровочную кривую, для получения полуколичественных результатов для тестируемых образцов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей (К), калибраторов (С) и предварительно разбавленных проб пациентов (Р) в дублях.

2. Для определения одного класса антител добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов в ячейки.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20 - 28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного раствора.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты.

Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Контроль качества

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1), Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и F полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерений в дублях, и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные средние значения ОП стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах.

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При исследовании нормального диапазона значений антител к DGP с использованием данного теста у здоровых доноров получены следующие значения:

	Антитела к DGP [Ед/мл]
нормальный уровень	<10
повышенный уровень	≥10

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории устанавливать свои собственные нормальные и патологические диапазоны сывороточных антител к DGP. Приведенные выше значения могут использоваться только в качестве ориентировочных.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
Сыворотки с высокой концентрацией антител к DGP были разведены буфером для образцов и проанализированы. Результаты анализа были линейны во всем измеряемом диапазоне.

Воспроизводимость
Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 2 различных опытов по 16 определений каждого из трех образцов:

Анти-DGP		
Внутри серии		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	22.1	3.0
2	39.9	3.8
3	69.2	4.3

Анти-DGP		
между сериями		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	23.3	8.1
2	40.1	4.7
3	71.3	7.0

Чувствительность
Нижняя граница определения для антител к DGP класса IgG – 0.5 Ед/мл.

Специфичность
Микропланшет покрыт высокоочищенными DGP. Данный набор специфичен для аутоантител к DGP.

Калибровка
Так как не существует международного стандарта анти-DGP антител, данный метод прокалиброван в условных единицах.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Тест-система ORGENTEC Anti-DGP IgG может быть использована как часть диагностической процедуры, но сама по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

Интерференции
Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

ЛИТЕРАТУРА
См. инструкцию на английском языке.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Антитела к DGP

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

↓

Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

↓

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

↓

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

↓

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Добавьте **100 мкл** раствора субстрата

↓

Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

↓

Выдержите **5 минут**

↓

Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

ORGENTEC

CE

551S_3

ORG 551S Anti-DGP Screen

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Anti-DGP Screen - это тест-система ELISA для количественного определения антител IgG и IgA к эпитопам дезамидированного белка глиадина (DGP) в сыворотке или плазме человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики.
Определение антител к DGP является вспомогательным средством в диагностике целиакии. Взаимодействие между пищевыми глиадиновыми пептидами и кишечным ферментом тканевой транслутаминазой (tTG) вызывает образование новых антигенных эпитопов, генерируемых tTG дезамидированных глиадиновых пептидов (DGP), а антитела против DGP являются специфическими серологическими маркерами заболевания. Лабораторные тесты на аутоантитела, специфичные для заболевания, способствуют диагностике наряду с клиническими наблюдениями и гистологией слизистой оболочки тонкого кишечника.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
551S_3	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR A	Калибратор
CALIBRATOR B	Калибратор
CALIBRATOR C	Калибратор
CALIBRATOR D	Калибратор
CALIBRATOR E	Калибратор
CALIBRATOR F	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE GA	Ферментный конъюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Дезамидированные белки глиадина абсорбированы на поверхности микропланшетных лунок.
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами: Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 551S	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Код продукта на модуле: DGP
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 0 Ед/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 6,3 Ед/мл, содержащий антитела к DGP в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 12,5 Ед/мл, содержащий антитела к DGP в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 25 Ед/мл, содержащий антитела к DGP в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 50 Ед/мл, содержащий антитела к DGP в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F	1x 1.5 ml	Калибратор F 100 Ед/мл, содержащий антитела к DGP в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 ml	Контроль положительный, содержащий антитела к DGP в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA,детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий антитела к DGP в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Дилюент P, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE GA	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий античеловеческие IgG-антитела, меченные HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления. Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.
- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.
Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

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

P1, ... Проба пациента A-F Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.
Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Калибровка

Эта система анализа откалибрована в условных единицах, поскольку для этого анализа не существует международного эталонного препарата.

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет 0 - 100 U/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off 10 U/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный: < 10 U/ml
Положительный: ≥ 10 U/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый U/ml	Ожидаемый U/ml	H/O [%]
1	1:100	55.0	55.0	100
.	1:200	25.6	27.5	93
.	1:400	12.0	13.8	87
.	1:800	5.7	6.9	83
.	1:1600	2.8	3.4	82
2	1:100	118.9	118.9	100
.	1:200	61.4	59.4	103
.	1:400	31.9	29.7	107
.	1:800	14.7	14.9	99
.	1:1600	7.1	7.4	96

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: 1 U/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.
Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	63.4	5.8
2	35.0	4.5
3	14.9	4.5

Анализ между сетиями		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	68.6	2.6
2	36.4	2.1
3	14.3	4.1

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n Поз	%
Целиакия	40	39	97.5
Нормальные человеческие сыворотки	50	0	0.0

		Клинический Диагноз	
		Поз	Нег
ORG 551S	Поз	39	0
	Нег	1	50
		40	50

90

Чувствительность: 97.5 %
Специфичность: 100.0 %
Общая достоверность: 98.9 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Приведенные выше патологические и нормальные референтные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Alessio M, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, Florena A, Schiaffino E, Marus W, Sulfaro S, Villalta D: Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease: A multicentre study. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2011.
2. Cummins AG, Roberts-Thomson IC: Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. J Gastroenterol. Hepatol. 2009, 24:1347-1351.
3. Giersiepen K, Lelgemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR: Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:229-241.
4. Green PH, Cellier C: Celiac disease. N. Engl. J Med. 2007, 357:1731-1743.
5. Gupta R, Reddy DN, Makharia GK, Sood A, Ramakrishna BS, Yachha SK, Thapa BR, Banerjee R, Anuradha S, Dutta U, Puri AS, Jain AK, Mulder CJ, Kumar A, Boindala S: Indian task force for celiac disease: current status. World J Gastroenterol. 2009, 15:6028-6033.
6. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Lelgeman M, Maki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP: European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:136-160.
7. Mahadov S, Green PH: Celiac disease: a challenge for all physicians. Gastroenterol. Hepatol.(N Y) 2011, 7:554 -556.
8. Marietta EV, Rashtak S, Murray JA: Correlation analysis of celiac sprue tissue transglutaminase and deamidated gliadin IgG/IgA. World J Gastroenterol. 2009, 15:845-848.
9. Murray JA: Serodiagnosis of celiac disease. Clin. Lab. Med. 1997, 17:445-464.
10. Rubio-Tapia A, Murray JA: Celiac disease. Curr. Opin. Gastroenterol. 2010, 26:116-122.
11. Telega G, Bennet TR, Werlin S: Emerging new clinical patterns in the presentation of celiac disease. Arch. Pediatr. Adolesc. Med 2008, 162:164-168.
12. Tjon JM, van BJ, Koning F: Celiac disease: how complicated can it get? Immunogenetics 2010, 62:641-651.
13. van der Windt DA, Jellema P, Mulder CJ, Kneepkens CM, van der Horst HE: Diagnostic testing for celiac disease among patients with abdominal symptoms: a systematic review. JAMA 2010, 303:1738-1746.
14. Villalta D, Tonutti E, Prause C, Koletzko S, Uhlig HH, Vermeersch P, Bossuyt X, Stern M, Laass MW, Ellis JH, Ciclitira PJ, Richter T, Daehnrich C, Schlumberger W, Mothes T: IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. Clin. Chem. 2010, 56:464-468.

Уведомление для пользователя (Европейский союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль

Прежняя версия: *ORG 551S_IFU_EN_QM113188_2013-12-16_1.2* Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

ORGENTEC

CE

580_3

ORG 580 Calprotectin

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Calprotectin (Кальпротектин) - это тест-система на основе ELISA для количественного измерения кальпротектина в образцах кала человека, которая будет использоваться при оценке воспалительных заболеваний кишечника. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики. Повышенный уровень кальпротектина в фекалиях может быть обнаружен у пациентов с хроническим воспалительным заболеванием кишечника (ВЗК) и другими заболеваниями брюшной полости, например, инфекционным гастроэнтеритом, некротизирующим энтероколитом, муковисцидозом и колоректальной карциномой. Кальпротектин в кале является чувствительным маркером ВЗК и особенно полезен для дифференциации синдрома раздраженного кишечника (СРК). Кроме того, измерение уровня кальпротектина может способствовать оценке активности заболевания.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
Σ 96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
580_3	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR A	Калибратор
CALIBRATOR B	Калибратор
CALIBRATOR C	Калибратор
CALIBRATOR D	Калибратор
CALIBRATOR E	Калибратор
CALIBRATOR F	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE	Ферментный конъюгат
EXTRACT	Экстракционная среда
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

PRINCIPLE OF THE TEST

Антитела к кальпротектину абсорбированы на поверхности микропланшетных лунок.
Кальпротектин, содержащийся в образце кала, должен быть выделен из кала с помощью экстракционной среды. Затем экстрагированный кальпротектин можно проанализировать с помощью ELISA набора Calprotectin (Кальпротектин).
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами:
Кальпротектин, выделенный из образца кала пациента, связывается с антителом, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты и несвязанный кальпротектин. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

CONTENTS OF THE KIT

ORG 580	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Код продукта на модуле: CP
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 15 мкг/г, содержащий кальпротектин человека в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 50 мкг/г; содержащий кальпротектин человека в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 100 мкг/г; содержащий кальпротектин человека в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 200 мкг/г; содержащий кальпротектин человека в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 500 мкг/г; содержащий кальпротектин человека в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F	1x 1.5 ml	Калибратор F 1000 мкг/г; содержащий кальпротектин человека в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 ml	Контроль положительный, содержащий кальпротектин человека в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий кальпротектин человека в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Дилюент P, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%; желтый, концентрат (5 раз).
CONJUGATE	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий антикальпротектин, маркированный HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 300 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
EXTRACT	20 ml	Среда для экстракции; содержит TBS, стабилизирующий белок, реагент для экстракции, консервант азид натрия 0,09%; 4 x конц.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл; опционально 5 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- ORG 282 Пробирки для сбора каловых масс; содержат 100 пробирок.
- SSCO Устройство для сбора Образцов Кала
- F5179 Среда для экстракции, 20 мл, 4 x конц.

Эти вспомогательные устройства приобретаются отдельно.

АВТОМАТИЗАЦИЯ

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления.

Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.

- Разбавленный Промывочный буфер, буфер для образцов и Среда для экстракции стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

EXTRACT

Среда для экстракции: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата экстракционной среды 4x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 80 мл.

СБОР, ПОДГОТОВКА, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ С ОБРАЗЦАМИ

Сбор образцов кала

Можно использовать устройство для сбора образцов кала (SSCO).

- Избегайте загрязнения туалетной водой, содержащей дезинфицирующие средства.
- Храните собранный образец кала не более 5 дней при температуре 2-8°C. В качестве альтернативы, храните при температуре -20 °C.

Подготовка образца кала для экстракции

Образец кала и EXTRACT должны быть комнатной температуры.

Для набора Alegria® Calprotectin (Кальпротектин) образец кала должен быть разведен 1:50 в прилагаемом растворе EXTRACT.

Неоднородные образцы должны быть гомогенизированы перед отбором проб, например, с помощью петли для инокуляции.

Для образцов жидкого стула мы рекомендуем взвесить образец.

Экстракция Кальпротектина с помощью трубки для извлечения кала (ORG 282)

Используйте Пробирки для сбора каловых масс в соответствии с Инструкцией по применению ORG 282

- Внесите **750 мкл** EXTRACT в прозрачную пробирку для получения разведения 1:50.
- Экстракция
  Открутите (исп. Вортекс) 30 секунд при 1800 об/мин, чтобы удалить образец кала из выемок шпателя.
  Далее гомогенизируйте в течение 15 мин на максимальной скорости в шейкере-качалке.

Откройте пробирку. Перелейте гомогенат в микропробирку. Центрифугируйте в течение 2 мин при 3000xg. Перелейте прозрачную жидкость в другую микропробирку и **немедленно** проведите тест на кальпротектин.

Экстракция кальпротектина с использованием других пробирок

- Взвесьте пустую пробирку.

Возьмите образец кала и перелейте в пробирку. Взвесьте и экстрагируемый кальпротектин с использованием другой пробирки, определяя вес нетто образца.

- Внесите EXTRACT в пробирку: 49-кратный вес нетто образца, необходимый для получения разведения 1:50.

Образец кала	+	EXTRACT	Образец кала	+	EXTRACT
15 mg	+	0.75 ml	60 mg	+	2.9 ml
20 mg	+	1.0 ml	70 mg	+	3.4 ml
30 mg	+	1.5 ml	80 mg	+	3.9 ml
40 mg	+	2.0 ml	90 mg	+	4.4 ml
50 mg	+	2.5 ml	100 mg	+	4.9 ml

Закройте пробирку. Открутите (исп. Вортекс) 30 секунд при 1800 об/мин. Далее гомогенизируйте в течение 15 мин на максимальной скорости в шейкере-качалке.
Откройте пробирку. Перелейте гомогенат в микропробирку. Центрифугируйте в течение 2 мин при 3000xg.
Перелейте прозрачную жидкость в другую микропробирку и **немедленно** проведите тест на кальпротектин.

Экстрагированный образец кала может храниться при температуре 2-8°C до 5 дней или при температуре -20°C до 4 месяцев. Экстрагированный образец кала нестабилен при комнатной температуре!

Разведение Экстрагированных образцов кала

Разведите экстрагированные образцы кала 1:100 перед анализом:
Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистирольную пробирку и добавьте 10 мкл экстрагированного образца кала. Хорошо перемешайте.

Примечание: Калибраторы / Контроли готовы к использованию, и их не нужно разбавлять.

Для расширенного диапазона измерений*

Если содержание кальпротектина составляет > 1000 мкг/г, мы рекомендуем повторно протестировать экстрагированный образец кала в более высоком разведении: внесите 1495 мкл предварительно разбавленного буфера для образца в полистирольную пробирку и добавьте 5 мкл экстрагированного образца кала, чтобы получить разведение 1:300. Хорошо перемешайте.
Примечание: Калибраторы / Контроли готовы к использованию, и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.
1. Пипетируйте по 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных экстрагированных образцов кала. Инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку. Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

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

P1, ... Проба пациента A-F Калибраторы C+, C- Контроли

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.
Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

Расширенный диапазон измерений*
Следуя этой процедуре, можно расширить диапазон измерения с 15-1000 мкг/г до 45-3000 мкг/г.:

- разбавьте экстрагированный образец кала 1:300, используйте 100 мкл на лунку.
- используйте калибраторы / элементы управления, как обычно, и выполняйте анализ, как обычно,
- для расчета результатов назначьте калибраторам следующие концентрации:
  A: **45** µg/g, B: **150** µg/g, C: **300** µg/g, D: **600** µg/g, E: **1500** µg/g, F: **3000** µg/g

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Калибровка

Система анализа калибруется с использованием эталонного препарата Кальпротектина, очищенного от нейтрофилов человека.

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет 15 - 1000 µg/g

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off 50 µg/g

Интерпретация результатов

Нормальный диапазон	< 50 µg/g
Слегка повышенные значения	50 - 200 µg/g
Значительно повышенные значения	> 200 µg/g

Уровень кальпротектина в пределах нормы: воспаление желудочно-кишечного тракта почти исключено; дальнейшие инвазивные диагностические мероприятия, как правило, не требуются.
Уровень кальпротектина слегка повышен: низкий уровень воспалительной активности в желудочно-кишечном тракте (например, ВЗК в стадии ремиссии); рекомендуется повторный тест и дальнейшие диагностические мероприятия.
Уровень кальпротектина значительно повышен: активное органическое заболевание желудочно-кишечного тракта; срочно рекомендуется проведение дальнейших интенсивных диагностических тестов и лечение у гастроэнтеролога.

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.
*Расширенный диапазон измерений

Проба	Разведение	Наблюдаемый µg/g	Ожидаемый µg/g	H/O [%]
1	1:100	896.9	896.9	100
	1:200	526.7	448.5	117
	1:400	246.0	224.2	110
	1:800	118.1	112.1	105
	1:1600	55.8	56.1	100
2	1:100	485.3	485.3	100

	1:200	247.1	242.7	102
	1:400	121.5	121.3	100
	1:800	60.4	60.7	100
	1:1600	27.1	30.3	89
3*	1:300	2354.0	2354.0	100
	1:600	1083.9	1177.0	92
	1:1200	547.1	588.5	93
	1:2400	261.3	294.3	89

Предел обнаружения

Самая низкая обнаруживаемая концентрация: 17.5 µg/g

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.

Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

*Расширенный диапазон измерений

Внутри серии анализ		
Проба	Значение µg/g	% CV
1	52.6	3.7
2	437.7	3.9
3	845.3	5.8
4*	1340.0	4.8

Анализ между сериями		
Проба	Значение µg/g	% CV
1	81.3	11.6
2	157.1	13.5
3	796.6	12.0
4*	1358.3	4.6

Интерференция

Следующие вещества были протестированы на 15 мг образца кала и были признаны не влияющими: Ванкомицина гидрохлорид 0,201 мг, Ципрофлоксацин 0,15 мг, Превазид 0,006 мг, Азатиоприн 0,021 мг, Преднизон 0,003 мг, Пентаза 0,399 мг, Витамин A 2,4 мг, Витамин C 0,015 мг, Витамин E 0,03 мг, Витамин D3 0.33 UI, Гемоглобин 1,749 мг.

Следующие микроорганизмы были протестированы в количестве 1,1 × 107 КОЕ на 15 мг образца кала и были признаны не влияющими: *E. coli, Klebsiella pneumoniae, Salmonella enterica, Shigella flexneri, Yersinia enteroclitica* .

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n Поз	%
Воспалительные заболевания кишечника	185	181	97.8
Абдоминальные расстройства	142	10	7.0
Здоровые доноры	18	0	0.0

		Результат диагностики		
		Поз	Нег	
ORG 580	Поз	181	10	
	Нег	4	150	
		185	160	345
Чувствительность:	97.8	%		
Специфичность:	93.8	%		
Общая достоверность:	95.9	%		

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Приведенные выше патологические и нормальные референтные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ИСТОЧНИКИ

1. Burri; Beglinger: “Faecal calprotectin – a useful tool in the management of inflammatory bowel disease”. Swiss Med Wkly. 2012; 142: w13557
2. Van Rheenen et al.: “Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis”. BMJ. 2010; 341: c3369
3. Johne; Fagerhol et al.: “Functional and clinical aspects of the myelomonocyte protein calprotectin”. J Clin Pathol: Mol Pathol. 1997; 50: 113-123
4. Berni et al.: “Faecal calprotectin is a useful diagnostic tool in pediatric gastroenterology”. Ital J Pediatr. 2005; 31: 89-94
5. Canani et al.: "Diagnostic value of faecal calprotectin in paediatric gastroenterology clinical practice“. Digestive and Liver Disease. 2004; 36: 467-470
6. Costa et al.: “Role of faecal calprotectin as non-invasive marker of intestinal inflammation”. Digestive and Liver Disease. 2003; 35: 642-647
7. Chapaiboon et al.: "Calprotectin S100A9 calcium binding loops I and II are essential for keratinocyte resistance to bacterial invasion“. The Journal of biological Chemistry. 2009; Vol 284; No 11: 7078-7090
8. Costa et al.: “Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn´s disease”. Gut. 2005; 54: 364-368
9. Fagerberg et al.: "Fecal calprotectin levels in healthy children studied with an improved assay“. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 2003; 37: 468-472
10. Montalto et al.: “Fecal calprotectin in first-degree relatives of patients with ulcerative colitis“. Am J Gastroenterol. 2006; 101: 1-5
11. Roseth et al.: "Normalization of faecal calprotectin: a predictor of mucosal healing in patients with inflammatory bowel disease“. Scand J Gastroenterol. 2004; 39: 1017-1020
12. Whitehead et al.: "Between-assay variability of faecal calprotectin enzyme-linked immunosorbent assay kits”. Annals of Clinical Biochemistry. 2013; 50: 53-61
13. NICE Diagnostics guidance 11, Oct. 2013, Faecal calprotectin diagnostic tests for inflammatory diseases of the bowel.
14. Layer et al.: "S3-Leitlinie Reizdarmsyndrom: Definition, Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie. Gemeinsame Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) und der Deutschen Gesellschaft für Neurogastroenterologie und Motilität (DGNM)". Z. Gastroenterol. 2011; 49:237 -293
15. Carroccio et al.:"Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children." Clin. Chem. 2003; 49:6: 861-867.
16. Montalto et al.: “Role of fecal calprotectin in gastrointestinal disorder“. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2013; 17: 1569-1582
17. Tibble et al.: “High prevalence of NSAID enteropathy as shown by simple faecal test”. Gut. 1999; 45: 362-366.

Уведомление для пользователя (Европейский союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль

Прежняя версия: ORG 580_IFU_EN_QM140866_2016-08-01_2 Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

1 Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
→ Incubate for **30 minutes** at room temperature
→ Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution

2 Pipet **100 µl** enzyme conjugate
→ Incubate for **15 minutes** at room temperature
→ Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution

3 Pipet **100 µl** substrate solution
→ Incubate for **15 minutes** at room temperature

4 Add **100 µl** stop solution
→ Leave untouched for **5 minutes**
→ Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

ORGENTEC

CE

527_3

ORG 527 Anti-Lactoferrin

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Anti-Lactoferrin (Анти-Лактоферрин) - представляет собой тест-систему ELISA для количественного измерения аутоантител класса IgG к лактоферрину в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики.
Аутоантитела против лактоферрина относятся к антинейтрофильным цитоплазматическим антителам (ANCA). Они чаще встречаются у пациентов с ревматоидным васкулитом, язвенным колитом и первичным склерозирующим холангитом. Вместе с другими клиническими и лабораторными данными они способствуют дифференциации васкулита, ассоциированного с ANCA, от васкулита, связанного с другими заболеваниями.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
527_3	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR A	Калибратор
CALIBRATOR B	Калибратор
CALIBRATOR C	Калибратор
CALIBRATOR D	Калибратор
CALIBRATOR E	Калибратор
CALIBRATOR F	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE	Ферментный конъюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Высокоочищенный Лактоферрин абсорбирован на поверхности микропланшетных лунок.
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами: Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 527	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Код продукта на модуле: LAC
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 0 Ед/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 6,3 Ед/мл, содержащий антитела к Лактоферрину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 12,5 Ед/мл, содержащий антитела к Лактоферрину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 25 Ед/мл, содержащий антитела к Лактоферрину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 50 Ед/мл, содержащий антитела к Лактоферрину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F	1x 1.5 ml	Калибратор F 100 Ед/мл, содержащий антитела к Лактоферрину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 ml	Контроль положительный, содержащий антитела к Лактоферрину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA,детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий антитела к Лактоферрину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Дилюент P, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий античеловеческие IgG-антитела, меченные HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления. Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.
- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.
Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

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

P1, ... Проба пациента A-F Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.
Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Калибровка

Эта система анализа откалибрована в условных единицах, поскольку для этого анализа не существует международного эталонного препарата.

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет 0 - 100 U/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off 10 U/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный: < 10 U/ml
Положительный: ≥ 10 U/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый U/ml	Ожидаемый U/ml	H/O [%]
1	1:100	79.4	79.4	100
.	1:200	38.9	39.7	98
.	1:400	19.4	19.9	97
.	1:800	10.0	9.9	101
.	1:1600	4.5	5.0	90
2	1:100	58.5	58.5	100
.	1:200	29.5	29.3	101
.	1:400	14.8	14.6	101
.	1:800	7.9	7.3	108
.	1:1600	3.3	3.7	89

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: 0.5 U/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.
Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	10.8	4.3
2	28.5	4.8
3	60.4	3.9

Анализ между сериями		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	10.6	5.2
2	29.3	7.0
3	61.4	6.4

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	ИФА	n	n Поз	%
ANCA васкулит	Поз	54	12	22.2
Другие состояния	Поз	35	12	34.3
Другие вазкулиты	Поз	13	4	30.8
Здоровый контроль	Нег	120	0	0.0
Неревматологические	Нег	72	11	15.3
Другие вазкулиты	Нег	42	4	9.5

Иммунологический диагноз

		ПОЗ	НЕГ	
ORG 527	Поз	28	15	
	Нег	74	219	
		102	234	336

Чувствительность:	27.5	%
Специфичность:	93.6	%
Общая достоверность:	73.5	%

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Приведенные выше патологические и нормальные референтные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Hauschild, S.; Schmitt,W.H.; Csernok, E.; Flesch,B. K.; Rautmann, A.; Gross,W.L. ANCA in systemic vasculitides, collagen vascular diseases, rheumatic disorders and inflammatory bowel diseases. ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press,New York, 1993, pp. 245 - 251.
2. Schmitt, W.H.; Csernok, E.; Flesch, B. K.; Hauschild, S., Gross, W.L. Autoantibodies directed against Lysozyme: A new target Antigen for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, 267 - 272.
3. Skogh, T. and Peen, E. Lactoferrin, Anti-Lactoferrin antibodies and inflammatory disease. ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, pp. 533 - 538.
4. Stoffel, M. P.; Csernok, E.; Herzberg, C.; Johnston, T.; Carroll, S.F. and Gross, W. L. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against bacteri-cidal/permeability increasing protein (BPI): a new seromarker for inflammatory bowel disease and associated disorders. Clin. Exp. Immunol. 1996, No. 104, pp. 54 - 59.
5. Zhao, M. H.; Jayne, D. R. W.; Ardiles, L. G.; Culley, F.; Hodson, M.E. and Lockwood. Autoantibodies against bactericidal/permeabilty increasing protein in patients with cystic fibrosis. J. Med. 1996, No. 89, pp. 259 - 265.
6. Wiik, A.; Stumman, L.; Kjeldsen, L.; Borregaard, N.; Ullman, S.; Jacobsen, S. and Halberg, P. The diversity of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA) antigens. Proceedings of the 6th international ANCA workshop, France - July 1995, pp. 15 - 17.
7. Jenette, J. C. and Falk, R. J. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and associated disease: A review. Am. J. of Kidney Disease 1990, Vol. XV, No. 6, pp. 517 - 529.
8. Schmitt, W. H. and Gross, W.L. Antineutrophil zytoplasmatische Antikörper (ANCA). Internist 1995, No. 36, pp. 282 - 290.
9. Gross, W.L. and Rheinhold-Keller, E. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg-Strauss-Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) – 1. Systematik, Pathogenese und Klinik. Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 279 - 290.
10. de Grot, K.; Schnabel, A. and Gross, W. L. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg-Strauss-Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) - 1. Diagnostisches Procedere. Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 291 - 302.
11. Talor MV, Stone JH, Stebbing J, Barin J, Rose NR, Burek CL: Antibodies to selected minor target antigens in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Clin.Exp.Immunol. 2007, 150:42-48.

Уведомление для пользователя (Европейский союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль
Прежняя версия: *ORG 527_IFU_EN_QM113161_2013-12-16_1.2* Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-Gliadin IgA

Кат. № ORG 534A

96 тестов

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный метод Anti-Gliadin IgA предназначен для количественного определения IgA антител к глиадину в человеческой сыворотке или плазме методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Набор предназначен только для диагностики in vitro с целью диагностики целиакии.

ВВЕДЕНИЕ

Серологический диагноз целиакии у детей и взрослых все больше и больше заменяет инвазивные методы биопсии. Целиакия, также известный как глютен-чувствительная энтеропатия - прежде всего болезнь, распространенная у детей. Она вызвана гиперчувствительной реакцией в ответ на поступление с пищей глиадина (глютена), белка, присутствующего во многих хлебных злаках. Это не IgE-опосредованная пищевая непереносимость ведет к тяжелым нарушениям всасывания и характеризуется полной атрофией ворсинок кишечника и гиперплазии крипт верхнего отдела тонкого кишечника.

Соблюдение безглютеновой диеты, то есть исключение всех продуктов, содержащих пшеницу, рожь, овес и ячмень, приводит к очень быстрому восстановлению слизистой, сопровождающемуся исчезновением мальабсорбции и сопутствующих клинических симптомов. Соответственно, пациенты, страдающие целиакией, должны придерживаться безглютеновой диеты всю оставшуюся жизнь

Глиадины - белки, содержащие большие количества аминокислот пролина и глутамина. Этот белок содержится в зернах пшеницы, овса, ячменя и ржи и ответственен за хлебопекарные свойства муки.

Благодаря возможности определять в сыворотке крови с высокой специфичностью и чувствительностью IgA- и IgG-антитела против глиадина можно уменьшить необходимость инвазивных процедур биопсии. В прошлом пациенты подвергались этой тяжелой процедуре несколько раз: при подозрении на целиакию, после определенного периода безглютеновой диеты, а также после теста провокации с глютеном. с того, как определенный gluten оспаривают Титр антитела к глиадину очень хорошо коррелируют с морфологическими признаками целиакии на слизистой верхнего отдела тонкой кишки. Было зарегистрировано, что снижение уровня антител происходит очень быстро после назначения безглютеновой диеты, и этот уровень повышается сразу после появления глютена в диете. Таким образом, серологический анализ представляет собой надежный метод контроля соблюдения безглютеновой диеты пациентами, особенно детьми и подростками.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокоочищенны глиадином. В ходе анализа происходят связывание аутоантител к этим антигеном, присутствующем в разведенном образце сыворотки или плазмы, с соответствующим антигеном. При промывке удаляются все несвязавшиеся компоненты. При последующей инкубации с конъюгатом пероксидазы хрена (HRP) с антителами к человеческим IgA образуется комплекс конъюгат/антитела, присутствующие в образце/антиген. При промывке удаляется несвязавшийся конъюгат. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Добавление кислого стоп-раствора останавливает реакцию, при этом окрашивание меняется на желтое. Интенсивность получившегося желтого окрашивания, измеряемая фотометрически при длине волны 450 нм, прямо пропорциональна концентрации IgA антител, присутствующих в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. 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.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов и буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN3) является высоко токсичным веществом и реактивен в чистом виде. В концентрациях, присутствующих в наборе (0.09%), он не опасен. Несмотря на лассификацию как не опасное вещество, рекомендуется соблюдать правила хорошей лабораторной практики (см. 8., 9., 10.).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, тщательно промывайте водопроводную систему большим количеством воды, для разведения ниже активного уровня.
8. При работе с образцами и реагентами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Соблюдайте руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенным глиадином. Готов к использованию.	1
Комбинированные калибраторы с IgA анти-глиадиновыми антителами (A-F) в сывороточном/буферном матриксе, (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) содержащие: IgG: 0; 6.3; 12.5; 25; 50 и 100 Ед/мл. Готовы к использованию.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к глиадину в сывороточном/буферном матриксе, (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) (положительный (1) и отрицательный (2)), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат*** (5х).	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи антитела против IgG антител человека, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи антитела против IgA антител человека, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Буфер для промывок (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), ***концентрат (50х).***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Храните набор при 2-8 °С.
2. Храните микропланшет запечетанным, в сухом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергайте реагенты нагреванию, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования.
5. Разведенный буфер для обраразцов и буфер для промывок стабильны в течений 30 дней при хранении при 2-8 °С.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для обработки результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови обычной венопункцией, избегая гемолиза.
2. Дайте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3. Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Избегайте тестирования гемолизных или липемичных образцов, хотя ни гемолиз, ни липемия не влияют на результаты анализа.
4. Образцы могут храниться при 2-8 °С до 5 дней и при -20 °С до 6 месяцев.
5. Избегайте повторных циклов замораживания/оттаивания. Это можт привести к различным потерям активности аутиантител.
6. Не рекомендуется тестировать образцы, инактивированные нагреванием.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2. Не заменяйте компоненты набора реагентами из других лотов.
3. Все материалы должны достичь комнатной температуры (20-28 °C) перед тестированием.
4. Перед началом анализа подготовьте все реагнты и образцы. После начала процедуры анализа должны выполняться без остановок, для получения наиболее достоверных и точных результатов.
5. Выполняйте все шаги анализа только в полном соответствии с данной инструкцией.
6. Всегд используйте свежие разведения образцов.
7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
8. Чтобы избежать перекрестной контаминации меняйте наконечники перед нанесением каждого образца и контроля.
9. Для достижения наиболее точных результатов очень важно тщательно промывать лунки микропланшета и удалить после промывки весь промывочный буфер из лунок.
10. Все инкубации должны проводиться строго в течение указанного времени.
11. Контрольные сыворотки или пулы должны тестироваться при каждой постановке, также, как и образцы, для проверки качества используемых реагентов и выполняемого анализа.
12. Не используйте лунки микропланшета повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации, можно построить калибровочную кривую, для получения полуколичественных результатов для тестируемых образцов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Готовый буфер для образцов хрниться при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Готовый промывочный буфер храниться при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Подготовка образцов

Разведите все образцы в 100 раз буфером для образцов перед тестированием. Например, внесите 10 мкл образца в 990 мкл буфера для образцов, в полистироловой пробирке. Тщательно перемешайте.
Контроли уже готовы к использованию, их не требуется разводить!

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и предварительно разведенных образцов, в дублях.

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
a	CA	CE	P1	P5		
b	CA	CE	P1	P5		
c	CB	CF	P2	P..		
d	CB	CF	P2	P..		
e	CC	K1	P3			
f	CC	K1	P3			
g	CD	K2	P4			
h	CD	K2	P4			

CA-CF: стандарты A - F
P1, P2...C: образцы 1, 2 ...
C1: положительный контроль
C2: отрицательный контроль

2. Внесите по **100 мкл** соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов, в дублях, в соответствующие лунки.

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20 - 28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного буфера.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую лунку.

6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое лунок и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного буфера.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую лунку.

9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую лунку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты.

Рекомендуется бихроматическое считывание с длиной волный сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин. Считайте оптическую плотность за это время.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Автоматизация
Метод ORGENTEC Anti-Gliadin ELISA может быть выполнен с помощью открытого автоматического ИФА анализатора. Процедура метода, описанная выше, пригодна как для автоматического, так и для ручного выполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества
Анализ данный методом может считаться достоверным только в случае, если оптическая плотность положительного контроля (1) и отрицательного контроля (2), а также стандартов A – F, измеренная при длине волны 450 нм, попадает в диапазон допустимых значений, указанных в сертификате контроля качества, посталяемом в наборе! Если какой-либо из этих критериев не выполняется, результаты считаются не достоверными и тест должен быть выполнен еще раз.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой зависимости оптической плотности от концентрации в линейно-логарифмических координатах.
Рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого калибратора по результатам измерения в дублях и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе при определении антител класса IgA к глиадину. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Стандарты (CT)									
No	Лунка	ОП 1	ОП 2	Сред-нее	Конц. 1	Конц. 2	Сред-нее	Заявл. Конц.	CV %
CTA	A 1/B 1	0,006	0,009	0,008	0,0	0,1	0,0	0,0	28
CTB	C 1/D 1	0,180	0,176	0,178	6,0	5,9	5,9	6,0	2
CTC	E 1/F 1	0,367	0,374	0,371	12	12	12	12	1
CTD	G 1/H 1	0,713	0,724	0,718	25	25	25	25	1
CTE	A 2/B 2	1,245	1,200	1,223	52	49	50	50	3
CTF	C 2/D 2	1,777	1,737	1,757	103	97	100	100	2

Интерпретация результатов
При исследовании нормального диапазона значений антител к глиадину с использованием данного теста у здоровых доноров получены следующие значения:

антитела к глиадину	
	IgA [Ед/мл]
нормальный уровень	< 12
повышенный уровень	≥ 12

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории устанавливать свои собственные нормальные и патологические диапазоны сывороточных антител к глиадину.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
Сыворотки с высокой концентрацией антител к глиадину класса IgA были разведены буфером для образцов и проанализированы. Результаты были линейными во всем диапазоне измерения.

Чувствительность
Нижняя граница определения для антител к глиадину класса IgA составляет 0.5 Ед/мл.

Специфичность
Микропланшет покрыт очищенным глиадином, выделенным из пшеницы. Данный набор предназначен для анализа только антител к глиадину.

Калибровка
Данный метод прокалиброван по сыворотке, международно признанной в качестве референсной, так как не существует другого международного стандарта.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Данный метод Anti-Gliadin IgA ELISA может быть использован в диагностических целях. Конечный клинический диагноз не должен шсновываться только на результатах отдельного теста, но должен был поставлен врачем на основании всех клинических и лабораторных исследований.

ВЛИЯЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Не наблюдалось интерференции при тестировании образцов с гемолизом (до 1000 мг/дл), липемией (до 3 г/дл триглицеридов) или билирубином (до 40 мг/дл). Также не было обнаружено влияния использования различных антикоагулянтов. Однако, из практических соображений рекомендуется избегать использования сильно гемолизных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ЛИТЕРАТУРА
1. Chartrand LJ, Seidman EG. Celiac disease is a lifelong disorder. Clin.Invest.Med., Vol. 19, 357-361, 1996
2. Cornell HJ. Coeliac disease: A review of the causative agents and their possible mechanisms of action. Amino Acids, Vol. 10, 1-19, 1996
3. Cronin CC, Feighery A, Ferriss JB, Liddy C, Shanahan F, Feighery C. High prevalence of celiac disease among patients with insulin-dependent (type I) diabetes
mellitus. Am.J Gastroenterol., Vol. 92, 2210-2212, 1997
4. Jokinen J, Peters U, Maki M, Miettinen A, Collin P. Celiac sprue in patients with chronic oral mucosal symptoms. J Clin.Gastroenterol., Vol. 26, 23-26, 1998
5. Taminiau JA. Celiac disease. Curr.Opin.Pediatr., Vol. 8, 483-486, 1996
6. Williams CN. Celiac disease: past, present and future. Can.J Gastroenterol., Vol. 11, 647-649, 1997

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

IgA -антитела к глиадину

Добавить **100 µл** стандартов в микроячейки	Добавить **100 µл** контролей или проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**

Считать при 450 нм

Anti- Anti-Gliadin IgA Orgentec

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-Gliadin IgG

Кат. № ORG 534G
96 тестов

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный метод Anti-Gliadin IgG предназначен для количественного определения IgG антител к глиадину в человеческой сыворотке или плазме методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Набор предназначен только для диагностики in vitro с целью диагностики целиакии.

ВВЕДЕНИЕ

Серологический диагноз целиакии у детей и взрослых все больше и больше заменяет инвазивные методы биопсии. Целиакия, также известный как глютен-чувствительная энтеропатия - прежде всего болезнь, распространенная у детей. Она вызвана гиперчувствительной реакцией в ответ на поступление с пищей глиадина (глютена), белка, присутствующего во многих хлебных злаках. Это не IgE-опосредованная пищевая непереносимость ведет к тяжелым нарушениям всасывания и характеризуется полной атрофией ворсинок кишечника и гиперплазии крипт верхнего отдела тонкого кишечника.

Соблюдение безглютеновой диеты, то есть исключение всех продуктов, содержащих пшеницу, рожь, овес и ячмень, приводит к очень быстрому восстановлению слизистой, сопровождающемуся исчезновением мальабсорбции и сопутствующих клинических симптомов. Соответственно, пациенты, страдающие целиакией, должны придерживаться безглютеновой диеты всю оставшуюся жизнь

Глиадины - белки, содержащие большие количества аминокислот пролина и глутамина. Этот белок содержится в зернах пшеницы, овса, ячменя и ржи и ответственен за хлебопекарные свойства муки.

Благодаря возможности определять в сыворотке крови с высокой специфичностью и чувствительностью IgA- и IgG-антитела против глиадина можно уменьшить необходимость инвазивных процедур биопсии.

В прошлом пациенты подвергались этой тяжелой процедуре несколько раз: при подозрении на целиакию, после определенного периода безглютеновой диеты, а также после теста провокации с глютеном. с того, как определенный gluten оспаривают Титр антитела к глиадину очень хорошо коррелируют с морфологическими признаками целиакии на слизистой верхнего отдела тонкой кишки. Было зарегистрировано, что снижение уровня антител происходит очень быстро после назначения безглютеновой диеты, и этот уровень повышается сразу после появления глютена в диете. Таким образом, серологический анализ представляет собой надежный метод контроля соблюдения безглютеновой диеты пациентами, особенно детьми и подростками.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокоочищенны глиадином. В ходе анализа происходят связывание аутоантител к этим антигеном, присутствующем в разведенном образце сыворотки или плазмы, с соответствующим антигеном. При промывке удаляются все несвязавшиеся компоненты. При последующей инкубации с конъюгатом пероксидазы хрена (HRP) с антителами к человеческим IgG образуется комплекс конъюгат/антитела, присутствующие в образце/антиген. При промывке удаляется несвязавшийся конъюгат. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Добавление кислого стоп-раствора останавливает реакцию, при этом окрашивание меняется на желтое. Интенсивность получившегося желтого окрашивания, измеряемая фотометрически при длине волны 450 нм, прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствующих в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. 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.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов и буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN3) является высоко токсичным веществом и реактивен в чистом виде. В концентрациях, присутствующих в наборе (0.09%), он не опасен. Несмотря на лассификацию как не опасное вещество, рекомендуется соблюдать правила хорошей лабораторной практики (см. 8., 9., 10.).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, тщательно промывайте водопроводную систему большим количеством воды, для разведения ниже активного уровня.
8. При работе с образцами и реагентами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Соблюдайте руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенным глиадином. Готов к использованию.	1
Комбинированные калибраторы с IgG анти-глиадиновыми антителами (A-F) в сывороточном/буферном матриксе, (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) содержащие: IgG: 0; 6.3; 12.5; 25; 50 и 100 Ед/мл. Готовы к использованию	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к глиадину в сывороточном/буферном матриксе, (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) (положительный (1) и отрицательный (2)), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат*** **(5x)**.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи антитела против IgG антител человека, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи антитела против IgG антител человека, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Буфер для промывок (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), ***концентрат (50x).***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Храните набор при 2-8 °C.
2. Храните микропланшет запечетанным, в сухом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергайте реагенты нагреванию, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования.
5. Разведенный буфер для обраразцов и буфер для промывок стабильны в течений 30 дней при хранении при 2-8 °C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для обработки результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови обычной венопункцией, избегая гемолиза.
2. Дайте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3. Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Избегайте тестирования гемолизных или липемичных образцов, хотя ни гемолиз, ни липемия не влияют на результаты анализа.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. Образцы могут храниться при 2-8 °C до 5 дней и при -20 °C до 6 месяцев.
5. Избегайте повторных циклов замораживания/оттаивания. Это можт привести к различным потерям активности аутиантител.
6. Не рекомендуется тестировать образцы, инактивированные нагреванием.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ
1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2. Не заменяйте компоненты набора реагентами из других лотов.
3. Все материалы должны достичь комнатной температуры (20-28 °C) перед тестированием.
4. Перед началом анализа подготовьте все реагнты и образцы. После начала процедуры анализа должны выполняться без остановок, для получения наиболее достоверных и точных результатов.
5. Выполняйте все шаги анализа только в полном соответствии с данной инструкцией.
6. Всегд используйте свежие разведения образцов.
7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
8. Чтобы избежать перекрестной контаминации меняйте наконечники перед нанесением каждого образца и контроля.
9. Для достижения наиболее точных результатов очень важно тщательно промывать лунки микропланшета и удалить после промывки весь промывочный буфер из лунок.
10. Все инкубации должны проводиться строго в течение указанного времени.
11. Контрольные сыворотки или пулы должны тестироваться при каждой постановке, также, как и образцы, для проверки качества используемых реагентов и выполняемого анализа.
12. Не используйте лунки микропланшета повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации, можно построить калибровочную кривую, для получения полуколичественных результатов для тестируемых образцов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ
Приготовление буфера для образцов
Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Готовый буфер для образцов хрниться при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.
Приготовление промывочного буфера
Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Готовый промывочный буфер храниться при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.
Подготовка образцов
Разведите все образцы в 100 раз буфером для образцов перед тестированием. Например, внесите 10 мкл образца в 990 мкл буфера для образцов, в полистироловой пробирке. Тщательно перемешайте.
Контроли уже готовы к использованию, их не требуется разводить!

МЕТОДИКА
1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и предварительно разведенных образцов, в дублях.

	1	2	3	4	5	6
a	CA	CE	P1	P5		
b	CA	CE	P1	P5		
c	CB	CF	P2	P..		
d	CB	CF	P2	P..		
e	CC	K1	P3			
f	CC	K1	P3			
g	CD	K2	P4			
h	CD	K2	P4			

CA-CF: стандарты A - F
P1, P2...C: образцы 1, 2 ...
C1: положительный контроль
C2: отрицательный контроль

2. Внесите по **100 мкл** соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов, в дублях, в соответствующие лунки.
3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20 - 28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного буфера.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую лунку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое лунок и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного буфера.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую лунку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую лунку и выдержите 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты.

Рекомендуется бихроматическое считывание с длиной волный сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин.
Считайте оптическую плотность за это время.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Автоматизация
Метод ORGENTEC Anti-Gliadin IgG ELISA может быть выполнен с помощью открытого автоматического ИФА анализатора. Процедура метода, описанная выше, пригодна как для автоматического, так и для ручного выполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества
Анализ данный методом может считаться достоверным только в случае, если оптическая плотность положительного контроля (1) и отрицательного контроля (2), а также стандартов A – F, измеренная при длине волны 450 нм, попадает в диапазон допустимых значений, указанных в сертификате контроля качества, посталяемом в наборе! Если какой-либо из этих критериев не выполняется, результаты считаются не достоверными и тест должен быть выполнен еще раз.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой зависимости оптической плотности от концентрации в линейно-логарифмических координатах.
Рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого калибратора по результатам измерения в дублях и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе при определении антител класса IgG к глиадину. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

		Стандарты (CT)							
No	Лунка	ОП 1	ОП 2	Сред-нее	Конц. 1	Конц. 2	Сред-нее	Заявл. Конц.	CV %
CTA	A 1/B 1	0,006	0,009	0,008	0,0	0,1	0,0	0,0	28
CTB	C 1/D 1	0,180	0,176	0,178	6,0	5,9	5,9	6,0	2
CTC	E 1/F 1	0,367	0,374	0,371	12	12	12	12	1
CTD	G 1/H 1	0,713	0,724	0,718	25	25	25	25	1
CTE	A 2/B 2	1,245	1,200	1,223	52	49	50	50	3
CTF	C 2/D 2	1,777	1,737	1,757	103	97	100	100	2

Интерпретация результатов

При исследовании нормального диапазона значений антител к глиадину с использованием данного теста у здоровых доноров получены следующие значения:

антитела к глиадину	
	IgG [Ед/мл]
нормальный уровень	< 12
повышенный уровень	≥ 12

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории устанавливать свои собственные нормальные и патологические диапазоны сывороточных антител к глиадину.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
Сыворотки с высокой концентрацией антител к глиадину класса IgG были разведены буфером для образцов и проанализированы. Результаты были линейными во всем диапазоне измерения.

Чувствительность
Нижняя граница определения для антител к глиадину класса IgG составляет 0.5 Ед/мл.

Специфичность
Микропланшет покрыт очищенным глиадином, выделенным из пшеницы. Данный набор предназначен для анализа только антител к глиадину.

Калибровка
Данный метод прокалиброван по сыворотке, международно признанной в качестве референсной, так как не существует другого международного стандарта.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Данный Метод Anti-Gliadin IgA ELISA может быть использован в диагностических целях. Конечный клинический диагноз не должен шсновываться только на результатах отдельного теста, но должен был поставлен врачем на основании всех клинических и лабораторных исследований.

ВЛИЯЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Не наблюдалось интерференции при тестировании образцов с гемолизом (до 1000 мг/дл), липемией (до 3 г/дл триглицеридов) или билирубином (до 40 мг/дл). Также не было обнаружено влияния использования различных антикоагулянтов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Однако, из практических соображений рекомендуется избегать использования сильно гемолизных или липемичных образцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chartrand LJ, Seidman EG. Celiac disease is a lifelong disorder. Clin.Invest.Med., Vol. 19, 357-361, 1996
2. Cornell HJ. Coeliac disease: A review of the causative agents and their possible mechanisms of action. Amino Acids, Vol. 10, 1-19, 1996
3. Cronin CC, Feighery A, Ferriss JB, Liddy C, Shanahan F, Feighery C. High prevalence of celiac disease among patients with insulin-dependent (type I) diabetes
mellitus. Am.J Gastroenterol., Vol. 92, 2210-2212, 1997
4. Jokinen J, Peters U, Maki M, Miettinen A, Collin P. Celiac sprue in patients with chronic oral mucosal symptoms. J Clin.Gastroenterol., Vol. 26, 23-26, 1998
5. Taminiau JA. Celiac disease. Curr.Opin.Pediatr., Vol. 8, 483-486, 1996
6. Williams CN. Celiac disease: past, present and future. Can.J Gastroenterol., Vol. 11, 647-649, 1997

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

IgG -антитела к глиадину

Добавить **100 µл** стандартов в микроячейки	Добавить **100 µл** контролей или проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**

Считать при 450 нм

Anti- Anti-Gliadin IgG Orgentec

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-Gliadin Screen

96 тестов

Кат. № ORG 534S

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского оригинала. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный метод Anti-Gliadin Screen предназначен для количественного определения IgG и IgA антител к глиадину в человеческой сыворотке или плазме методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Набор предназначен только для диагностики in vitro с целью диагностики целиакии.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Цилякия впервые была описана в 1888 году Dr. Samuel Gee, отметившим плохой рост, абнормальный стул и вздутие живота как общие симптомы у детей. В 1950ых годах, когда появилась возможность проведения пероральной биопсии слизистой, у пациентов с целякией было выявлено типичное нарушение слизистой тонкого кишечника. У пациентов, страдающих этим заболеванием, развивается атрофия ворсинок кишечника и гиперплазия крипт верхнего отдела тонкого кишечника [1].

Пациенты с целякией могут страдать от диарреи, различных желудочно-кишечных заболеваний, анемии, хронической усталости, психических проблем, или заболевание может протекать бессимптомно. Исчезновение клинических симптомов и восстановление слизистой после установления безглютеновой диеты является объективным показателем глютен-индуцированной энтеропатии. [2].

Диагноз целякии устанавливается при выявлении патологии в тонком кишечнике, при исследовании биоптата, а затем подтверждается клиническим ответом на безглютеновую диету, т.е. исключение всех продуктов, содержащих пшеницу, рожь, овес и ячмень. Приблизительно для 10% пациентов, особенно взрослых, необходима, дополнительно к безглютеновой диете, терапия кортикостероидами, для нормализации слизистой кишечника. У пациентов, страдающих целякией, не получивших соответствующего лечения, повышен риск развития лимфом или опухолей ЖКТ. Кроме того, целякия, даже протекающая бессимптомно, без соответствующего лечения вызывает предрасположенность к другим аутоиммунным заболеваниям, таким как сахарный диабет, ревматоидные заболевания, аутоиммунный гепатит или тиреоидит.

Частая ассоциация целякии и селективного дефицита IgA является потенциальным источником ложно отрицательных результатов при исследовании IgA. Таким образом, при подозрении на целякию рекомендуется определение аутоантител класса IgG.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокоочищенным глиадином из пшеницы. В ходе анализа происходят связывание аутоантител к этому антигену, присутствующих в разведенном образце сыворотки или плазмы, с антигеном. При промывке удаляются все несвязавшиеся компоненты. При последующей инкубации с конъюгатом пероксидазы хрена (HRP) с антителами к человеческим IgG и IgA образуется комплекс конъюгат/антитела, присутствующие в образце/антиген. При промывке удаляется несвязавшийся конъюгат. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Добавление кислого стоп-раствора останавливает реакцию, при этом окрашивание меняется на желтое. Интенсивность получившегося желтого окрашивания, измеряемая фотометрически при длине волны 450 нм, прямо ропорциональна концентрации IgG и IgA антител, присутствующих в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. 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.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов и буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN3) является высоко токсичным веществом и реактивен в чистом виде. В концентрациях, присутствующих в наборе (0.09%), он не опасен. Несмотря на лассификацию как не опасное вещество, рекомендуется соблюдать правила хорошей лабораторной практики (см. 8., 9., 10.).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, тщательно промывайте водопроводную систему большим количеством воды, для разведения ниже активного уровня.
8. При работе с образцами и реагентами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Соблюдайте руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых глиадином	1
Комбинированные калибраторы с IgG и IgA антителами к глиадину (A-F) в сывороточном/буферном матриксе, (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) содержащие: 0; 6.3; 12.5; 25; 50 и 100 Ед/мл. Готовы к использованию	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к глиадину в сывороточном/буферном матриксе, (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) (положительный (1) и отрицательный (2)), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат* (5x)**.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи IgG-антитела против IgG и IgA антител человека, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Буфер для промывок (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), ***концентрат (50x).***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Храните набор при 2-8 °C.
2. Храните микропланшет запечетанным, в сухом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергайте реагенты нагреванию, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования.
5. Разведенный буфер для обраразцов и буфер для промывок стабильны в течений 30 дней при хранении при 2-8 °C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для обработки результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови обычной венопункцией, избегая гемолиза.
2. Дайте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Избегайте тестирования гемолизных или липемичных образцов, хотя ни гемолиз, ни липемия не влияют на результаты анализа.
4. Образцы могут храниться при 2-8 °C до 5 дней и при -20 °C до 6 месяцев.
5. Избегайте повторных циклов замораживания/оттаивания. Это может привести к различным потерям активности аутиантител.
6. Не рекомендуется тестировать образцы, инактивированные нагреванием.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2. Не заменяйте компоненты набора реагентами из других лотов.
3. Все материалы должны достичь комнатной температуры (20-28 °C) перед тестированием.
4. Перед началом анализа подготовьте все реагнты и образцы. После начала процедуры анализа должны выполняться без остановок, для получения наиболее достоверных и точных результатов.
5. Выполняйте все шаги анализа только в полном соответствии с данной инструкцией.
6. Всегд используйте свежие разведения образцов.
7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
8. Чтобы избежать перекрестной контаминации меняйте наконечники перед нанесением каждого образца и контроля.
9. Для достижения наиболее точных результатов очень важно тщательно промывать лунки микропланшета и удалить после промывки весь промывочный буфер из лунок.
10. Все инкубации должны проводиться строго в течение указанного времени.
11. Контрольные сыворотки или пулы должны тестироваться при каждой постановке, также, как и образцы, для проверки качества используемых реагентов и выполняемого анализа.
12. Не используйте лунки микропланшета повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации, можно построить калибровочную кривую, для получения полуколичественных результатов для тестируемых образцов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Готовый буфер для образцов хрниться при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Готовый промывочный буфер храниться при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Подготовка образцов

Разведите все образцы в 100 раз буфером для образцов перед тестированием. Например, внесите 10 мкл образца в 990 мкл буфера для образцов, в полистироловой пробирке. Тщательно перемешайте.
Контроли уже готовы к использованию, их не требуется разводить!

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Материал образца: сыворотка или плазма
Объем образца: 10 µл
Образцы должны быть разбавлены 1:100 буфером для образцов.
100 µл разбавленного образца для одинарного определения
Общее время инкубации: 60 мин. при комнатной температуре (20 - 28 °C)
Диапазон калибровки: 6 - 100 Е/мл
Чувствительность: 0,5 Е/мл
Хранение: охлаждение при 2 - 8 °C
Срок годности: 12 месяцев с момента изготовления или до указанного на этикетках срока годности.
Формат набора: 96 тестов

Планшет может быть разделен на 12 стрипов по 8 ячеек каждый или может быть использован сразу для 96 определений.
образование сэндвичевого комплекса и ферментная цветная реакция в следующих фазах реакции:

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и предварительно разведенных образцов, в дублях.

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
a	CA	CE	P1	P5		
b	CA	CE	P1	P5		
c	CB	CF	P2	P..		
d	CB	CF	P2	P..		
e	CC	K1	P3			
f	CC	K1	P3			
g	CD	K2	P4			
h	CD	K2	P4			

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

CA-CF: стандарты A - F
P1, P2...C: образцы 1, 2 ...
C1: положительный контроль
C2: отрицательный контроль

2. Внесите по **100 мкл** соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов, в дублях, в соответствующие лунки.

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20 - 28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного буфера.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую лунку.

6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое лунок и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного буфера.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую лунку.

9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую лунку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты.

Рекомендуется бихроматическое считывание с длиной волный сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Метод ORGENTEC Anti-Gliadin Screen ELISA может быть выполнен с помощью открытого автоматического ИФА анализатора. Процедура метода, описанная выше, пригодна как для автоматического, так и для ручного выполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Анализ данный методом может считаться достоверным только в случае, если оптическая плотность положительного контроля (1) и отрицательного контроля (2), а также стандартов A – F, измеренная при длине волны 450 нм, попадает в диапазон допустимых значений, указанных в сертификате контроля качества, посталяемом в наборе! Если какой-либо из этих критериев не выполняется, результаты считаются не достоверными и тест должен быть выполнен еще раз.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Также возможно использование логарифмических координат и сглаженной аппроксимации сплайнами.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого калибратора по результатам измерения в дублях и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Стандарты (CT)

No	Лунка	ОП 1	ОП 2	Сред-нее	Конц. 1	Конц. 2	Сред-нее	Заявл. Конц.	CV %
CTA	A 1/B 1	0,017	0,021	0,019	0,0	0,1	0,0	0,0	14,9
CTB	C 1/D 1	0,205	0,210	0,207	5,9	6,1	6,0	6,3	1,7
CTC	E 1/F 1	0,425	0,442	0,433	12.3	12,8	12,6	12,5	2,8
CTD	G 1/H 1	0,826	0,855	0,840	24.5	25,5	25	25	2,4
CTE	A 2/B 2	1,508	1.538	1,523	49.6	50,9	50,2	50	1,4
CTF	C 2/D 2	2,470	2,350	2,410	104.3	95,4	99,9	100	3,5

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При исследовании нормального диапазона значений антител к глиадину с использованием данного теста у здоровых доноров получены следующие значения:

нормальный уровень	<15 Ед/мл
повышенный уровень	≥15 Ед/мл

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории устанавливать свои собственные нормальные и патологические диапазоны сывороточных антител к глиадину.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями IgA- и IgG-антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Образец №	Разведение	Наблюдаемое [Ед/мл]	Ожидаемое [Ед/мл]	Соотношение Наблюдаемое/ Ожидаемое
1	1:200	17,6		
	1:400	8,9	8,9	100 %
	1:800	4,5	4,5	100 %
	1:1600	2,4	2,3	96 %
2	1:200	66,7		
	1:400	37,8	33,4	88 %
	1:800	19,5	18,9	97 %
	1:1600	8,7	9,8	97 %

Воспроизводимость

Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 6 различных опытов по 8 определений каждого образца:

Внутри серии		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	13,4	2,2
2	29,2	5,1
3	68,8	3,7

Между сериями		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	14,0	2,1
2	29,2	1,9
3	64,4	6,0

Чувствительность

Нижняя граница определения для антител к глиадину – 1,0 Ед/мл.

Специфичность

Микропланшет покрыт очищенным глиадином пшеницы. Данный набор специфичен только для аутоантител к глиадину.

Калибровка

До тех пор, пока не появится международный референс-стандарт для антител к глиадину, аналитическая система калибруется в относительных условных единицах.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

ВЛИЯЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Не наблюдалось интерференции при тестировании образцов с гемолизом (до 1000 мг/дл), липемией (до 3 г/дл триглицеридов) или билирубином (до 40 мг/дл). Также не было обнаружено влияния использования различных антикоагулянтов. Однако, из практических соображений рекомендуется избегать использования сильно гемолизных или липемичных образцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chartrand LJ, Seidman EG.
Celiac disease is a lifelong disorder.
Clin.Invest.Med., Vol. 19, 357-361, 1996
2. Cornell HJ.
Coeliac disease: A review of the causative agents and their possible mechanisms of action.
Amino Acids, Vol. 10, 1-19, 1996
3. Cronin CC, Feighery A, Ferriss JB, Liddy C, Shanahan F, Feighery C.
High prevalence of celiac disease among patients with insulin-dependent (type I) diabetes
mellitus.
Am.J Gastroenterol., Vol. 92, 2210-2212, 1997
4. Jokinen J, Peters U, Maki M, Miettinen A, Collin P.
Celiac sprue in patients with chronic oral mucosal symptoms.
J Clin.Gastroenterol., Vol. 26, 23-26, 1998
5. Taminiau JA.
Celiac disease.
Curr.Opin.Pediatr., Vol. 8, 483-486, 1996
6. Williams CN.
Celiac disease: past, present and future.
Can.J Gastroenterol., Vol. 11, 647-649, 1997

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Добавить **100 µл** стандартов в микроячейки	Добавить **100 µл** контролей или проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**

Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-PR3 (cANCA

Кат. Номера ORG 518
96 тестов

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANTI-PR3 предназначен для количественного определения антител класса G против протеиназы 3 (PR3) в человеческой сыворотке или плазме. Этот метод предназначен только для диагностики *in vitro* с целью диагностики определенных аутоиммунных васкулитов, таких как гранулематоз Вегенера.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Термином «ANCA» (антинейтрофильные цитоплазматические антитела) обозначают антитела, специфичные к цитоплазматическим антигенам гранулоцитов и моноцитов. Классическими методами определения ANCA являются иммунофлуоресцентные методы. Методом непрямой иммунофлуоресценции выявлены два основные типа свечения:

- цитоплазматический (c-ANCA) тип свечения и
- перинуклеарный (p-ANCA) тип свечения.

Основным антигеном для c-ANCA является протеиназа 3 (PR3) – сериновая протеаза из первичных гранул нейтрофилов. Антитела p-ANCA положительной сыворотки направлены против миелопероксидазы. Среди других p-ANCA часто выявляют антитела к следующим антигенам: лактоферрину, эластазе, катепсину G и лизоциму. Кроме различных нетипичных вариантов к p-ANCA в иммунофлуоресцентном методе будут отнесены гранулоцит-специфические антинуклеарные антитела (GS-ANA), которые будут неотличимы от p-ANCA в этом тесте. Это затрудняет ясные интерпретацию и классификацию p-ANCA в тесте иммунофлуоресценции.

Анти- PR3- и анти- MPO-антитела являются надёжными диагностическими маркёрами васкулитов. Протеиназа 3 (PR3) – классический аутоантиген при грануломатозе Вегенера с клинической специфичностью более 95%. Наличие cANCA подтверждено у пациентов с различными заболеваниями. Миелопероксидаза является основным антигеном-мишенью у 70% пациентов с микроскопическим полиангиитом.

ПРИНЦИП МЕТОДА

В лунках планшета сорбирован высоко очищенный антиген протеиназа 3. В ходе анализа происходят: связывание присутствующих аутоантител. Промывочный раствор удаляет несвязавшиеся компоненты сыворотки. Раствор коньюгата анти-IgG человека-пероксидаза хрена связывается с аутоантителами пациента с формированием иммунного комплекса конъюгат-антитела. Несвязавшийся ферментный коньюгат удаляется промывочным раствором. Хромогенный раствор субстрата, содержащий ТМБ, в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислого стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG в образце и измеряется при 450 нм.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту B 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, сорбированный высоко очищенной PR3, помещенный в пакет из фольги с осушителем. Готов для использования.	1
Калибраторы IgG-антител к PR3 (A-F) в сыворотке/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие следующие концентрации: 0; 5; 10, 20; 40 и 100 Е/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли анти-PR3 антител в буфере/сыворотке (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)): положительный (1) и отрицательный контроль (2), точные концентрации указаны во вкладыше к набору.	2 флакона 1,5 мл каждый

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Готовы для использования.	
Буфер образцов (Tris буфер, NaN_3<0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат*** 5x	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, Проклин 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-IgG человека антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (фосфатно-солевой буфер, NaN_3<0,1%(w/w), ***концентрат***, 50x	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Соберите образец цельной крови стандартной венопункцией, избегая гемолиза.

1 Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием
2 Избегайте гемолиза, липемии или микробиологического загрязнения сыворотки
3 Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.
4 Для предотвращения повторных циклов замораживания-оттаивания (это может привести к потере активности антител) следует приготовить аликвоты образцов.
5 Все пробы сыворотки и плазмы должны быть разбавлены 1:100 буфером для образцов. Следовательно, 10 мкл образца могут быть разбавлены 1000 мкл буфера.
6 Использование для анализа инактивированной нагреванием сыворотки не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28°C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов 1:100 буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

П Р О В Е Д Е Н И Е А Н А Л И З А

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и предварительно разбавленных проб пациентов.

2. Добавьте в ячейки **100 мкл** контролей, калибраторов и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
a	CA	CE	P2	P6		
b	CA	CE	P2	P6		
c	CB	K1	P3	P..		
d	CB	K1	P3	P..		
e	CC	K2	P4			
f	CC	K2	P4			
g	CD	P1	P5			
h	CD	P1	P5			

CA-CF: стандарты A - E
P1, P2...: образцы 1, 2 ...

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

K1: положительный контроль
K2: отрицательный контроль

3. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре (20 - 28°C).
4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
10 Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и позвольте постоять 5 минут.
11.Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация
Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества
Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного и положительного контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов
Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации. Может быть также использована аппроксимация Smoothed Spline и log-log координаты.
Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага.

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

Ожидаемые значения
При изучении нормального диапазона использовались образцы сыворотки из крови здоровых доноров, и был установлен следующий диапазон значений для анти- PR3 антител:

	Антитела к PR3, Ед/мл
Нормальный уровень:	< 5
Повышенный уровень:	≥ 5

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к PR3. Значения выше референсного диапазона должны рассматриваться только как ориентировочные.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями IgG-антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы.

Образец №	Разведение	Наблюдаемое [Ед/мл]	Ожидаемое [Ед/мл]	Соотношение Наблюдаемое/ Ожидаемое
1	1:100	78.9		
	1:200	39.8	39.5	101 %
	1:400	20.6	19.7	105 %
	1:800	10.6	9.9	107 %
	1:1600	5.3	4.9	108 %
2	1:100	77.5		
	1:200	37.4	38.8	96 %
	1:400	19.1	19.4	98 %
	1:800	9.7	9.7	100 %
	1:1600	5.0	4.8	104 %

Воспроизводимость
Статистика для коэффициентов корреляции (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одной постановке для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных анализов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Значение [Е/мл]	CV [%]
1	10,9	4,7
2	24,6	2,8
3	58,5	2,8

Между сериями		
Образец No	Значение [Е/мл]	CV [%]
1	10,4	6,2
2	23,4	8,8
3	60,7	3,9

Чувствительность
Минимально определяемый предел для анти-PR3 – 0,5 Е/мл.

Специфичность
Микропланшет покрыт высоко очищенной PR3, выделенной из человеческих гранулоцитов, и показывающей высоко специфичную протеазную активность. Тест специфичен только для аутоантител к этому антигену. Перекрестных реакций не наблюдалось.

КАЛИБРОВКА

До тех пор, пока не существует международно признанного стандарта для антител к PR3, стандарты прокалиброваны в относительных арбитражных единицах.

Ограничения метода
1. Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Интерференции

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

Литература

1. Jennette, J.C. and Falk, R.J. Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies and Associated Diseases: a Review. Am. J. Kidney Dis. 1990, Vol. XV, No. 6: 517 - 529.
2. Gross, W.L. et al. Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibody-Associated Diseases: A Rheumatologist`s Perspective. Am. J. Kidney Dis. 1991, Vol. XVIII, No. 2: 175 - 179.
3. Wieslander, J. How are Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies Detected ? Am. J. Kidney Dis. 1991, Vol. XVIII, No. 2: 154 - 158.
4. Lesavre, P. Antineutrophil cytoplasmic antibodies antigen specificity. Am. J. Kidney Dis. 1991, Vol. XVIII, No. 2: 159 - 163.
5. Hagen, E.C. et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: a review of the antigens involved, the assays, and the clinical and possible pathogenic consequences. Blood 1993, Vol.81: 1996 - 2000.
6. Gross, W.L. et al. Immunodiagnostische und immunopathogenetische Bedeutung von Anti-Neutrophilen-Cytoplasma-Antikörpern. Deutsche Medizinische Wochenschrift 1993, Vol. 118: 191 - 199.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

определение анти-PR3 антител

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

→ Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

→ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

→ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

→ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ

→ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

→ Выдержите **5 минут**

→ Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-MPO (pANCA)

Кат. Номера ORG 519
96 тестов

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANTI-MPO предназначен для количественного определения антител класса G против миелопероксидазы (MPO) в человеческой сыворотке или плазме. Этот метод предназначен только для диагностики *in vitro* с целью диагностики определенных аутоиммунных васкулитов, таких как микроскопический полиартериит и «полулунный» гломерулонефрит.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Термином «ANCA» (антинейтрофильные цитоплазматические антитела) обозначают антитела, специфичные к цитоплазматическим антигенам гранулоцитов и моноцитов. Классическими методами определения ANCA являются иммунофлуоресцентные методы. Методом непрямой иммунофлуоресценции выявлены два основные типа свечения:

- цитоплазматический (c-ANCA) тип свечения и
- перинуклеарный (p-ANCA) тип свечения.

Основным антигеном для c-ANCA является протеиназа 3 (PR3) – сериновая протеаза из первичных гранул нейтрофилов. Антитела p-ANCA положительной сыворотки направлены против миелопероксидазы. Среди других p-ANCA часто выявляют антитела к следующим антигенам: лактоферрину, эластазе, катепсину G и лизоциму. Кроме различных нетипичных вариантов к p-ANCA в иммунофлуоресцентном методе будут отнесены гранулоцит-специфические антинуклеарные антитела (GS-ANA), которые будут неотличимы от p-ANCA в этом тесте. Это затрудняет ясные интерпретацию и классификацию p-ANCA в тесте иммунофлуоресценции. Поэтому каждый положительный случай в иммунофлуоресцентном тесте, особенно найденные p-ANCA, для дифференциального диагноза должен анализироваться методом иммуноферментного анализа, который использует очищенные антигены.

Анти- PR3- и анти- MPO-антитела являются надёжными диагностическими маркёрами васкулитов. Протеиназа 3 (PR3) – классический аутоантиген при гранулематозе Вегенера с клинической специфичностью более 95%. Наличие cANCA подтверждено у пациентов с различными заболеваниями. Миелопероксидаза является основным антигеном-мишенью у 70% пациентов с микроскопическим полиангиитом.

ПРИНЦИП МЕТОДА

В лунках планшета сорбирован высоко очищенный антиген миелопероксидаза. В ходе анализа происходят: связывание присутствующих аутоантител. Промывочный раствор удаляет несвязавшиеся компоненты сыворотки. Раствор коньюгата анти-IgG человека-пероксидаза хрена связывается с аутоантителами пациента с формированием иммунного комплекса конъюгат-антитела. Несвязавшийся ферментный коньюгат удаляется промывочным раствором.

Хромогенный раствор субстрата, содержащий ТМБ, в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислого стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG в образце и измеряется при 450 нм.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту B 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, сорбированный высоко очищенной MPO, помещенный в пакет из фольги с осушителем. Готов для использования.	1
Калибраторы IgG-антител к MPO (A-F) в сыворотке/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие следующие концентрации: 0; 5; 10, 20; 40 и 100 Е/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Контроли анти-MPO антител в буфере/сыворотке (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)): положительный (1) и отрицательный контроль (2), точные концентрации указаны во вкладыше к набору. Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris буфер, NaN_3<0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат*** 5х	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, Проклин 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-IgG человека антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (фосфатно-солевой буфер, NaN_3<0,1%(w/w), ***концентрат***, 50х	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Соберите образец цельной крови стандартной венопункцией, избегая гемолиза.

1 Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием
2 Избегайте гемолиза, липемии или микробиологического загрязнения сыворотки
3 Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.
4 Для предотвращения повторных циклов замораживания-оттаивания (это может привести к потере активности антител) следует приготовить аликвоты образцов.
5 Все пробы сыворотки и плазмы должны быть разбавлены 1:100 буфером для образцов. Следовательно, 10 мкл образца могут быть разбавлены 1000 мкл буфера.
6 Использование для анализа инактивированной нагреванием сыворотки не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28°C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов 1:100 буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

П Р О В Е Д Е Н И Е А Н А Л И З А

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и предварительно разбавленных проб пациентов.
2. Добавьте в ячейки **100 мкл** контролей, калибраторов и предварительно разбавленных образцов пациентов.
3. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре (20 - 28°C).
4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
10 Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и позвольте постоять 5 минут.
11.Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.
Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация
Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества
Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного и положительного контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов
Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации. Может быть также использована аппроксимация Smoothed Spline и log-log координаты.
Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага.

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

Ожидаемые значения
При изучении нормального диапазона использовались образцы сыворотки из крови здоровых доноров, и был установлен следующий диапазон значений для анти- MPO антител:

	Антитела к MPO, Ед/мл
Нормальный уровень:	< 5
Повышенный уровень:	≥ 5

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к MPO. Значения выше референсного диапазона должны рассматриваться только как ориентировочные.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями IgG-антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы.

Образец №	Разведение	Наблюдаемое [Ед/мл]	Ожидаемое [Ед/мл]	Соотношение Наблюдаемое/ Ожидаемое
1	1:100	87,3		
	1:200	44,1	43,7	101 %
	1:400	21,5	21,8	99 %
	1:800	9,7	10,9	89 %
	1:1600	5,0	5,5	91 %
2	1:100	79,9		
	1:200	39,3	40,0	98 %
	1:400	19,0	20,0	95 %
	1:800	8,5	10,0	85 %
	1:1600	4,3	5,0	86 %

Воспроизводимость
Статистика для коэффициентов корреляции (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одной постановке для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных анализов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Значение [Е/мл]	CV [%]
1	15,1	6,4
2	30,2	4,1
3	59,9	3,1

Между сериями		
Образец No	Значение [Е/мл]	CV [%]
1	15,7	5,0
2	33,8	4,9
3	78,3	6,3

Чувствительность
Минимально определяемый предел для анти-MPO – 0,5 Е/мл.

Специфичность
Микропланшет покрыт высоко очищенной MPO, выделенной из человеческих гранулоцитов, и показывающей высоко специфичную пероксидазную активность. Тест специфичен только для аутоантител к этому антигену. Перекрестных реакций не наблюдалось.

КАЛИБРОВКА

До тех пор, пока не существует международно признанного стандарта для антител к MPO, стандарты прокалиброваны в относительных арбитражных единицах.

Ограничения метода
1. Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Интерференции
Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

Литература
1. Jennette, J.C. and Falk, R.J. Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies and Associated
Diseases: a Review. Am. J. Kidney Dis. 1990, Vol. XV, No. 6: 517 - 529.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2. Gross, W.L. et al. Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibody-Associated Diseases: A
Rheumatologist`s Perspective. Am. J. Kidney Dis. 1991, Vol. XVIII, No. 2: 175 - 179.
3. Wieslander, J. How are Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibodies Detected ? Am. J.
Kidney Dis. 1991, Vol. XVIII, No. 2: 154 - 158.
4. Lesavre, P. Antineutrophil cytoplasmic antibodies antigen specificity. Am. J. Kidney Dis.
1991, Vol. XVIII, No. 2: 159 - 163.
5. Hagen, E.C. et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: a review of the antigens
involved, the assays, and the clinical and possible pathogenic consequences. Blood 1993,
Vol.81: 1996 - 2000.
6. Gross, W.L. et al. Immunodiagnostische und immunopathogenetische Bedeutung von Anti-Neutrophilen-
Cytoplasma-Antikörpern. Deutsche Medizinische Wochenschrift 1993, Vol. 118: 191 - 199.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Определение анти-MPO антител

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

↘ Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

↘ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

↘ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

↘ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ

↘ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

↘ Выдержите **5 минут**

↘ Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-PR3 hs

Кат. Номер ORG 618
96 тестов

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANTI-PR3 HS предназначен для количественного определения антител класса G против протеиназы 3 (PR3) в человеческой сыворотке или плазме. Этот метод предназначен только для диагностики *in vitro* с целью диагностики определенных аутоиммунных васкулитов, таких как гранулематоз Вегенера.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Термином «ANCA» (антинейтрофильные цитоплазматические антитела) обозначают антитела, специфичные к цитоплазматическим антигенам гранулоцитов и моноцитов. Классическими методами определения ANCA являются иммунофлуоресцентные методы. Методом непрямой иммунофлуоресценции выявлены два основные типа свечения:

- цитоплазматический (c-ANCA) тип свечения и
- перинуклеарный (p-ANCA) тип свечения.

Основным антигеном для c-ANCA является протеиназа 3 (PR3) – сериновая протеаза из первичных гранул нейтрофилов. Антитела p-ANCA положительной сыворотки направлены против миелопероксидазы. Среди других p-ANCA часто выявляют антитела к следующим антигенам: лактоферрину, эластазе, катепсину G и лизоциму. Кроме различных нетипичных вариантов к p-ANCA в иммунофлуоресцентном методе будут отнесены гранулоцит-специфические антинуклеарные антитела (GS-ANA), которые будут неотличимы от p-ANCA в этом тесте. Это затрудняет ясные интерпретацию и классификацию p-ANCA в тесте иммунофлуоресценции.

Анти- PR3- и анти- MPO-антитела являются надёжными диагностическими маркёрами васкулитов. Протеиназа 3 (PR3) – классический аутоантиген при грануломатозе Вегенера с клинической специфичностью более 95%. Наличие cANCA подтверждено у пациентов с различными заболеваниями. Миелопероксидаза является основным антигеном-мишенью у 70% пациентов с микроскопическим полиангиитом.

ПРИНЦИП МЕТОДА

В лунках планшета сорбирован высоко очищенный антиген протеиназа 3. В ходе анализа происходят: связывание присутствующих аутоантител. Промывочный раствор удаляет несвязавшиеся компоненты сыворотки. Раствор коньюгата анти-IgG человека-пероксидаза хрена связывается с аутоантителами пациента с формированием иммунного комплекса конъюгат-антитела. Несвязавшийся ферментный коньюгат удаляется промывочным раствором. Хромогенный раствор субстрата, содержащий ТМБ, в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислого стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG в образце и измеряется при 450 нм.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту B 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит фосфорную кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, сорбированный высоко очищенной PR3, помещенный в пакет из фольги с осушителем. Готов для использования.	1
Калибраторы IgG-антител к PR3 (A-F) в сыворотке/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие следующие концентрации: 0; 10, 20; 40; 80 и 200 Е/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли анти-PR3 антител в буфере/сыворотке (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)): положительный (1) и отрицательный контроль (2), точные	2 флакона 1,5 мл каждый

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

концентрации указаны во вкладыше к набору. Готовы для использования.	
Буфер образцов (Tris буфер, NaN_3<0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат*** 5x	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, Проклин 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-IgG человека антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (фосфатно-солевой буфер, NaN_3<0,1%(w/w), ***концентрат***, 50x	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1 Соберите образцы крови обычной венопункцией, избегая гемолиза.
2 Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием
3 Избегайте гемолиза, липемии или микробиологического загрязнения сыворотки
4 Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.
5 Для предотвращения повторных циклов замораживания-оттаивания (это может привести к потере активности антител) следует приготовить аликвоты образцов.
6 Использование для анализа инактивированной нагреванием сыворотки не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28°C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 200 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 5 мкл образца и 995 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

П Р О В Е Д Е Н И Е А Н А Л И З А

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и предварительно разбавленных проб пациентов.

2. Добавьте в ячейки **100 мкл** контролей, калибраторов и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре (20 - 28°C).

4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
10 Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и позвольте постоять 5 минут.
11.Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация
Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества
Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного и положительного контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов
Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага. Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

Ожидаемые значения
При изучении нормального диапазона использовались образцы сыворотки из крови здоровых доноров, и был установлен следующий диапазон значений для анти- PR3 антител:

	Антитела к PR3 hs-Ab, Ед/мл
Нормальный уровень:	< 10
Повышенный уровень:	≥ 10

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к PR3. Значения выше референсного диапазона должны рассматриваться только как ориентировочные.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями IgG-антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы.

Чувствительность
Минимально определяемый предел для анти-PR3 – 0,5 Е/мл.

Специфичность
Микропланшет покрыт высоко очищенной PR3, выделенной из человеческих гранулоцитов, и показывающей высоко специфичную протеазную активность. Тест специфичен только для аутоантител к этому антигену. Перекрестных реакций не наблюдалось.

КАЛИБРОВКА

Так как не существует международно признанного стандарта для антител к PR3, стандарты прокалиброваны в относительных условных единицах.

Ограничения метода
Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Интерференции
Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

Литература
См. инструкцию на английском языке.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

определение анти-PR3 hs антител

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

↘ Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

↘ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

↘ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

↘ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ

↘ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

↘ Выдержите **5 минут**

↘ Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-GBM

Кат. Номер ORG 550
96 тестов

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и на английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор Anti-GBM основан на непрямом твердофазном иммуноферментном методе (ELISA) и предназначен для количественного измерения IgG класса аутоантител к базальной мембране клубочков в образцах плазмы и сыворотки. Метод предназначен только для провкедения анализа in vitro и может быть использован как дополнительный тест при диагностике аутоиммунных нарушений почек (например при синдроме Гудпасчера).

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Первично, синдром Гудпасчера является аутоиммунным заболеванием почек. Американский патолог Эрнст Гудпасчер впервые в 1919 году описал клинический комплекс, состоящий из летальных легочных кровотечений и пролиферативного гломерулонефрита у молодых мужчин. В настоящее время данный синдром рассматривается как триада, состоящая из гломерулонефрита, легочных кровотечений и образования антител к базальной мембране клубочков.

Частота выявления синдрома Гудпасчера составляет 0.5-1 случай на 1 миллион жителей в год. Чаще всего страдают пациенты третьего и седьмого десятков лет жизни. Летальность среди пациентов в отсутствие лечения составляет 75-90% из-за развивающейся почечной или дыхательной недостаточности. Гистологически заболевание характеризуется линейным отложением иммуноглобулинов на базальной мембране клубочков, обнаруживаемым прямой иммунофлуоресценцией биоптата почек. Сегодня обнаружение циркулирующих аутоантител к С-терминальному концу а-3 цепи коллагена VI типа является диагностическим критерием заболевания.

Базальная мембрана клубочков формирует анатомический барьер между эпителием и соединительной тканью. Коллаген VI типа, обнаруживаемый только в базальной мембране клубочков, формирует матрикс, в который интегрированы другие молекулы (ламинин, энтактин). Три из шести а-цепей (полипептидов, состоящих более чем из 1650 аминокислотных остатков) образуют тройную спираль и характеризуют структурную субъединицу коллагена VI типа. Все С-терминальные концы а-цепей формируют глобулярный домен, который может быть отщеплен от тройной спирали бактериальной коллагеназой.

Специфичные для синдрома Гудпасчера антитела к базальной мембране клубочков напралены против домена NC1 (молекулярная масса 29 kDa) а-3 цепи молекулы коллагена VI типа в базальной мембране клубочков. Эти антитела вместе с гломерулонефритом и легочными кровотечениями сегодня характеризуют синдром Гудпасчера. ELISA тест-системы на основе чистого антигена показывают чувствительность 98-99%.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокоочищенным антигеном GBM. Антитела к этому антигену, присутствующие в разведенной сыворотке, связываются в лунках. При промывке ячеек удаляются все несвязавшиеся антитела. Пероксидаза хрена (HRP), конъюгированная с антителами к IgG человека иммунологически связывается с аутоантителами пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. При промывке ячеек удаляется весь несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением 1М соляной кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие гепатита В и ВИЧ. Однако ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами крови следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, Контроли, буфер для образцов и промывочный буфер) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN_3) в чистом виде очень токсичное и химически активное вещество. В тех концентрациях, в которых оно содержится в реагентах набора, оно не представляет опасности. Несмотря на классификацию как неопасного вещества, производитель настоятельно рекомендует соблюдайте принятые правила работы в лаборатории (см. 8., 9., 10.)
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, промывайте водопроводную систему большими количествами воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
8. При обращении с образцами или компонентами набора используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9. Не отбирайте образцы ртом.
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить.
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

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.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых покрытых высокоочищенными антигенами базальной мембраны клубочков. Готов к использованию.	1
Калибраторы анти-GBM антител в сыворотке/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% масс), содержащие следующие концентрации: 0; 20; 40; 80 и 200 Е/мл. Готовы к использованию.	1 набор, 5 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли анти-GBM антител в сыворотке/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% масс) (положительный и отрицательный), см. вкладыш со значениями. Готовы к использованию.	1 набор, 2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN_3<0,1% масс), желтый, концентрат (5х).	1 флакон, 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, Procline 300 <0,5% об) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон, 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон, 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон, 15 мл
Буферный промывочный раствор (PBS, NaN_3 <0,1% масс), концентрат (50х).	1 флакон, 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Хранить набор при 2-8 °С.
2. Хранить микропланшет в тщательно закрытом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не нагревайте реагенты набора, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования набора.
5. Разведенные буфер для образцов и буфер для промывок стабильны не менее 30 дней при температуре 2-8 °С.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или многократный дозатор на 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для расчета результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1.Соберите образцы цельной крови, с использованием обычных техник, избегая гемолиза.
2.Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3.Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Гемолиза или липемии лучше избегать, но они не оказывают существенного влияния на анализ.
4.Образцы могут храниться при охлаждении до 2 – 8 °С по крайней мере 5 суток.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.
5.Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания образцов сыворотки. Это может привести к потере активности аутоантител.
6.Тестирование инактивированных нагреванием образцов не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2.Не смешивайте и не заменяйте компоненты из разных лотов.
3. Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28 °C).
4. Приготовьте все реагенты до начала проведения анализа. После начала тестирования его надо проводить без остановок, для получения наиболее верных и постоянных результатов.
5.Выполняйте все этапы тестирования в том порядке, как это описано в данной инструкции.
6. Всегда используйте свежие разведения образцов.
7. При внесении всех реагентов и образцов пипетируйте прямо на дно ячеек.
8. Для предотвращения загрязнения образцов меняйте наконечники перед внесением каждого следующего образца или контроля, используйте одноразовые наконечники.
9.Для получения лучших результатов очень важно тщательно промывать ячейки, и полностью удалять оставшиеся в ячейках капли буфера для промывок.
10. Строго соблюдайте время инкубаций.
11. Контроли следует анализировать как неизвестные образцы для проверки работы реагентов и набора.
12.Не используйте лунки повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации можно построить калибровочную кривую и провести полуколичественную оценку образцов сывороток пациентов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое каждого флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием. Готовый буфер для образцов хранится охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до истечения срока годности.

Приготовление буфера для промывок

Разбавьте содержимое каждого флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до истечения срока годности.

Приготовление образцов

Разведите все пробы пациентов 1:50 буфером для образцов перед исследованием. Смешайте 10 мкл образца и 490 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте. Калибраторы и контроли готовы к использованию и не требуют разведения.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

1.Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов (SA-SE), контролей (C1, C2) и разбавленных проб (P) пациентов в дублях.
2.Добавьте **100 µl** стандартов, контролей и разбавленных проб пациентов в каждую ячейку.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
a	SA	SE	P2	P6								
b	SA	SE	P2	P6								
c	SB	C1	P3	P..								
d	SB	C1	P3	P..								
e	SC	C2	P4	..								
f	SC	C2	P4	..								
g	SD	P1	P5									
h	SD	P1	P5									

3.Инкубируйте **30 минут** при комн. температуре (20 - 28 °C).
4.Удалите содержимое ячеек и промойте **3 раза 300 µл** промывочного раствора.
5.Добавьте **100 µл** ферментного коньюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7.Удалите содержимое ячеек и промойте **3 раза 300 µл** промывочным раствором.
8.Добавьте **100 µl** раствора субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9.Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре, защищая от света.
10.Добавьте **100 µл** стоп-раствора в каждую ячейку и оставьте стоять в течение 5 минут.
11.Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты. Бихроматическое измерение проводите при 600-650 нм.

Развившаяся окраска стабильна 30 минут.

Проводите измерение оптической плотности в течение этого времени.

Автоматизация

Данный набор ORGENTEC ELISA может быть использован с открытыми автоматическими ИФА анализаторами. Процедура анализа, описанная выше, пригодна для постановки вручную, и на автоматическом анализаторе.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест действителен только в том случае, если значения оптической плотности (ОП), при длине волны 450 нм, для положительного контроля (1) и для отрицательного контроля (2),

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

а также для калибраторов A и E, находятся в соответствующих диапазонах, указанных в сертификате контроля качества, прилагаемом к каждому набору! Если какой-либо из этих критериев не выполнен, то результаты считаются недостоверными и тест должен быть повторен.

Расчет результатов

Для расчета результатов данного теста рекомендуется использовать 4-параметрическую регрессию и построение кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого калибратора по результатам измерения в дублях и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов.

Интерпретация результатов

При исследовании диапазона нормальных значений в образцах сыворотки у здоровых доноров с использованием данного теста были получены следующие значения:

нормальные: < 20 [Ед/мл]

положительные: ≥ 20 [Ед/мл]

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории устанавливать свои собственные нормальные и патологические диапазоны сывороточных антител к GMB. Приведенные выше значения могут использоваться только в качестве ориентировочных.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы. В обоих случаях результаты показали линейность во всем измеряемом диапазоне.

Воспроизводимость

Статистика для коэффициентов корреляции (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одной постановке для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных анализов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Значение x (МЕ/мл)	CV (%)
1	15.6	5.3
2	85.8	5.4
3	143.4	5.7
Между сериями		
Образец No	Значение x (МЕ/мл)	CV (%)
1	14.2	6.4
2	90.1	5.4
3	154.4	5.8

Чувствительность

Минимально детектируемый предел для анти-GBM антител определяется как 1 Ед/мл.

Специфичность

Ячейки планшета покрыты высокоочищенным антигеном GBM. Перекрестная реактивность не обнаруживается.

Калибровка

Так как не существует международного референс-стандарта аутоантител к GBM, аналитическая система калибруется в относительных условных единицах.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Данный набор Anti-tissue Transglutaminase Screen ELISA предназначен для диагностических целей. Однако окончательный диагноз не должен базироваться только на результатах одного теста, но должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

На результаты анализа не оказывал гемолиз (до 1000 мг/дл), липемия (до 3 г/дл триглицеридов) или присутствие билирубина (до 40 мг/дл) в сыворотке. Использование различных коагулянтов также не оказывало влияния. Однако, из практических соображений, не рекомендуется использовать сильно гемолизованные или липемичные образцы.

ЛИТЕРАТУРА

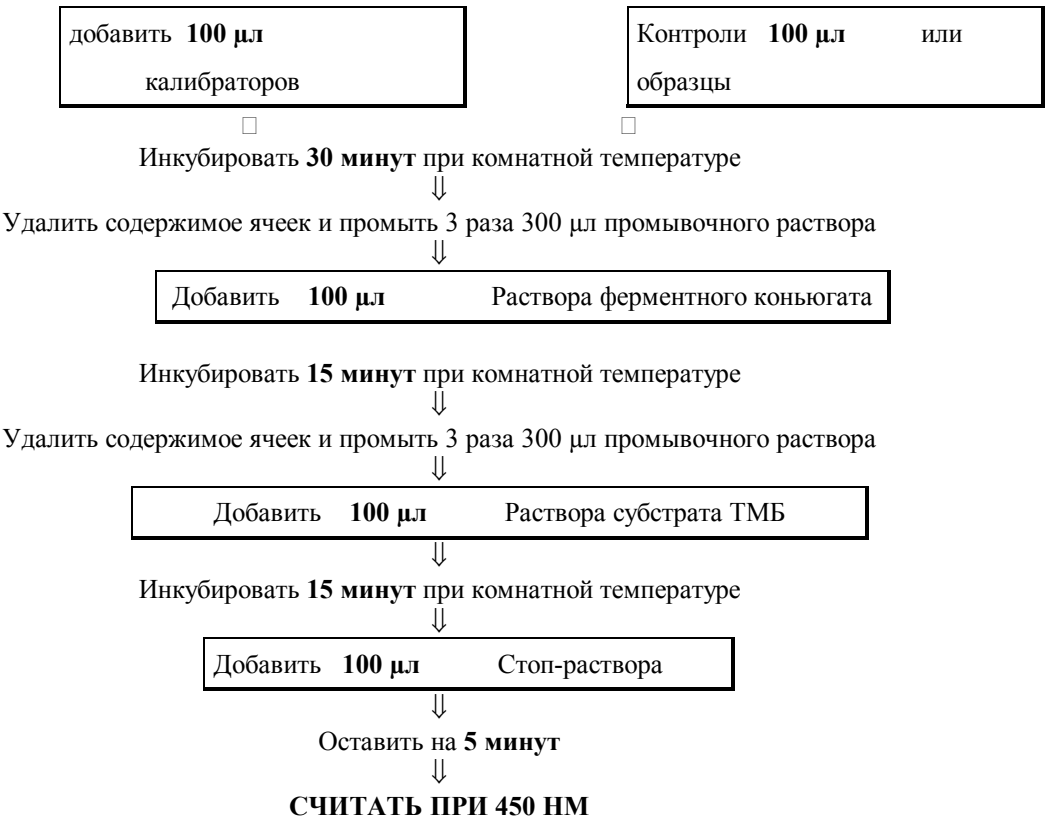
1. Bolton, W.K. Goodpasture's syndrome. Kidney Int., Vol. 50, 1753-1766, 1996
2. Daly, C., Conlon, P.J., Medwar, W., Walshe, J.J. Characteristics and outcome of anti-glomerular basement membrane disease: a single center experience. Ren. Fail., Vol. 18, 105-112, 1996
3. Goodpasture, E.W. The significance of certain pulmonary lesions to the etiology of influenza. Am. J. Med. Sci., Vol.158, 864-870, 1919
4. Hellmark, T., Segelmark, M., Bygren, P., Wieslander, J. Glomerular basement membrane autoantibodies. in: Peter, J.B., Shoenfeld, Y. (Hrsg.), Autoantibodies, S. 291-298, 1996

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5. Hudson, B.G., Reeders, S.T., Tryggvason, K. Type IV collagen: structure, gene organization, and role in human diseases. J. Biol. Chem., Vol. 268, 26033-26036, 1993
6. Hudson, B.G., Wieslander, J., Wisdom, B.J., Noelken, M.E. Goodpasture syndrome: Molecular architecture and function of basement membrane antigen. Lab. Invest., Vol. 61, 256-269, 1989
7. Kalluri, R., Gattone, V.H., Noelken, M.E., Hudson, B.G. The α3 chain of type IV collagen induces autoimmune Goodpasture syndrome. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 91, 6201-6205, 1994
8. Kalluri, R., Melendez, E., Rumpf, K.W., Sattler, K., et al. Specificity of circulating and tissue bound autoantibodies in Goodpasture syndrome Proc. Assoc. Am. Physicians, Vol. 108, 134-139, 1996
9. Saxena, R., Sturfelt, G., Nived, O., Wieslander, J. Significance of anti-entactin antibodies in patients with systemic lupus erythematosus and related disorders. Ann. Rheum. Dis., Vol. 53, 659-665, 1994
10. Wieslander, J., Bygren, P., Heinegard, D. Isolation of the specific glomerular basement membrane antigen involved in Goodpasture syndrome. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 81, 1544-1548, 1984a
11. Wieslander, J., Barr, J.F., Butkowski, R.J., Edwards, S.J. et al. Goodpasture antigen of the glomerular basement membrane: localization to noncollagenous regions of type IV collagen. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 81, 3838-3842, 1984b

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ANCAscreen hs (high sensitive)

96 тестов
Кат. № ORG 689

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и на английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор Anca-Screen основан на непрямом твердофазном иммуноферментном методе (ELISA) и предназначен для качественного определения антинейтрофильных цитоплазматических аутоантител класса G, направленных к PR3 и MPO в образцах плазмы и сыворотки. Метод предназначен только для проведения анализа in vitro и может быть использован при диагностике систематических васкулитов.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Термином «ANCA» (антинейтрофильные цитоплазматические антитела) обозначают антитела, специфичные к цитоплазматическим антигенам гранулоцитов и моноцитов. Классическими методами определения ANCA являются иммунофлуоресцентные методы. Методом непрямой иммунофлуоресценции выявлены два основные типа свечения:

- цитоплазматический (c-ANCA) тип свечения и
- перинуклеарный (p-ANCA) тип свечения.

Недавно были идентифицированы основные антигены для c- и p-ANCA. Антигеном – мишенью для 80-90% c-ANCA является протеиназа 3 (PR3) – сериновая протеаза из α-гранул нейтрофилов. 10-20% c-ANCA направлены к другим белкам.

Солюбилизация фиксированных этанолом гранулоцитов обуславливает связывание положительно заряженных перинуклеарных белков. Антитела к этим белкам, определяемые в тесте иммунофлуоресценции, называются p-ANCA.

Приблизительно 90% p-ANCA положительных сывороток содержит антитела против миелоперксидазы (MPO), локализованной в гранулах нейтрофильных гранулоцитов. Среди других p-ANCA часто выявляют антитела к следующим антигенам: лактоферрину, эластазе, катепсину G и лизоциму. Кроме различных нетипичных вариантов к p-ANCA в иммунофлуоресцентном методе будут отнесены гранулоцит-специфические антинуклеарные антитела (GS-ANA), которые будут неотличимы от p-ANCA в этом тесте. Ясные интерпретация и классификация ANCA в тесте иммунофлуоресценции довольно затруднительны.

Поэтому каждый положительный случай в иммунофлуоресцентном тесте, особенно найденные p-ANCA, должен анализироваться методом иммуноферментного анализа, который использует очищенные антигены.

Титры анти-PR3 коррелируют с клиническим статусом больного. Титры антител падают при лечении и становятся отрицательными при достижении ремиссии. Уровни анти-MPO также коррелируют с клиническим статусом. Они всегда выше в активную фазу болезни по сравнению с ремиссией.

Показания к исследованию на специфические ANCA представлены в таблице ниже. Анти- PR3- и анти- MPO-антитела являются надёжными диагностическими маркёрами васкулитов.

Протеиназа 3 (PR3) – классический аутоантиген при грануломатозе Вегенера с клинической специфичностью более 95%. pANCA обнаруживаются у 70% пациентов с микроскопическим полиангиитом.

	Тип свечения	**Антиген-мишень**
Синдромы системных васкулитов		
Грануломатоз Вегенера	c-ANCA, редко p-ANCA	PR3, редко MPO
Микроскопический полиангиит	c-ANCA, p-ANCA	PR3, MPO
Синдром Черджа-Страусса	p-ANCA	MPO
Быстропрогрессирующие гломерулонефриты	p-ANCA	MPO
Нодозный полиартериит	Редко ANCA	Редко PR3 и MPO
Неклассифицируемые васкулиты	Редко	Нет PR3 и MPO
Коллагенозы и другие ревматические заболевания		
Ревматоидные артриты	GS-ANA, p-ANCA, атипичные ANCA	Неизвестный, ANA, редко MPO, лактоферрин
СКВ	p-ANCA	редко MPO, лактоферрин
Другие заболевания		
Язвенные колиты	p-ANCA, атипичные ANCA	Катепсин G, лактоферрин и другие неизвестные антигены
Болезнь Крона		
Хронические гепатиты		

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокоочищенным антигенами PR3 и MPO. Антитела к этим антигенам, присутствующие в разведенной сыворотке, связываются в лунках. При промывке ячеек удаляются все несвязавшиеся антитела. Пероксидаза хрена (HRP), конъюгированная с антителами к IgG человека иммунологически связывается с аутоантителами пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. При промывке ячеек удаляется весь несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением раствора фосфорной кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие гепатита 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.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, Контроли, буфер для образцов и промывочный буфер) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN_3) в чистом виде очень токсичное и химически активное вещество. В тех концентрациях, в которых оно содержится в реагентах набора, оно не представляет опасности. Несмотря на классификацию как неопасного вещества, производитель настоятельно рекомендует соблюдайте принятые правила работы в лаборатории (см. 8., 9., 10.)
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, промывайте водопроводную систему большими количествами воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
8. При обращении с образцами или компонентами набора используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9. Не отбирайте образцы ртом.
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить.
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

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.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенными антигенами PR3 и MPO. Готов к использованию.	1
Контроли ANCA в фосфатно-белковом матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% масс) отрицательный (A), контроль, Cutt-Off (B) и положительный (C). Готовы к использованию.	3 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN_3<0,1% масс), желтый, ***концентрат(5x)***.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, Procline 300 <0,5% об) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgG-IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (PBS, BSA, NaN3 <0,1% масс), ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или многократный дозатор на 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для расчета результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1.Соберите образцы цельной крови, с использованием обычных техник, избегая гемолиза.
2.Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3.Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Гемолиза или липемии лучше избегать, но они не оказывают существенного влияния на анализ.
4.Образцы могут храниться при охлаждении до 2 – 8 °С по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°С.
5.Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания образцов сыворотки. Это может привести к потере активности аутоантител.
6.Тестирование инактивированных нагреванием образцов не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2.Не смешивайте и не заменяйте компоненты из разных лотов.
3. Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28 °С).
4. Приготовьте все реагенты до начала проведения анализа. После начала тестирования его надо проводить без остановок, для получения наиболее верных и постоянных результатов.
5.Выполняйте все этапы тестирования в том порядке, как это описано в данной инструкции.
6. Всегда используйте свежие разведения образцов.
7. При внесении всех реагентов и образцов пипетируйте прямо на дно ячеек.
8. Для предотвращения загрязнения образцов меняйте наконечники перед внесением каждого следующего образца или контроля, используйте одноразовые наконечники.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9.Для получения лучших результатов очень важно тщательно промывать ячейки, и полностью удалять оставшиеся в ячейках капли буфера для промывок.
10. Строго соблюдайте время инкубаций.
11. Контроли следует анализировать как неизвестные образцы для проверки работы реагентов и набора.
12.Не используйте лунки повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации можно построить калибровочную кривую и провести полуколичественную оценку образцов сывороток пациентов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое каждого флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием. Готовый буфер для образцов хранится охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до истечения срока годности.

Приготовление буфера для промывок

Разбавьте содержимое каждого флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до истечения срока годности.

Приготовление образцов

Разведите все пробы пациентов 1:50 буфером для образцов перед исследованием. Смешайте 10 мкл образца и 490 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте. Калибраторы и контроли готовы к использованию и не требуют разведения.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

1.Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов (SA-SE), контролей (C1, C2) и разбавленных проб (P) пациентов в дублях.

2.Добавьте **100 µl** стандартов, контролей и разбавленных проб пациентов в каждую ячейку.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
a	C1	P3										
b	C1	P4										
c	C2	P5										
d	C2											
e	C3											
f	C3											
g	P1											
h	P2											

C1 – отрицательный контроль
C2 – Cut-off контроль
C3 – положительный контроль
P… - образцы пациентов

3.Инкубируйте **30 минут** при комн. T (20 - 28 °C).
4.Удалите содержимое ячеек и промойте **3 раза 300 µl** промывочного раствора.
5.Добавьте **100 µl** ферментного коньюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7.Удалите содержимое ячеек и промойте **3 раза 300 µl** промывочным раствором.
8.Добавьте **100 µl** раствора субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9.Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре, защищая от света.
10.Добавьте **100 µl** стоп-раствора в каждую ячейку и оставьте стоять в течение 5 минут.
11.Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты. Бихроматическое измерение проводите при 600-650 нм.

Развившаяся окраска стабильна 30 минут.
Проводите измерение оптической плотности в течение этого времени.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест действителен только в том случае, если значения оптической плотности (ОП), при длине волны 450 нм, для положительного контроля (1) и для отрицательного контроля (2), а также для калибраторов A и E, находятся в соответствующих диапазонах, указанных в сертификате контроля качества, прилагаемом к каждому набору! Если какой-либо из этих критериев не выполнен, то результаты считаются недостоверными и тест должен быть повторен.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оценка результатов теста ANCA-screen проводится сравнением отношения оптической плотности (OD) образца каждого пациента с cutt-off контролем (cutt-off K).
Проба пациента положительна, если оптическая плотность образца выше оптической плотности cutt-off контроля.
Отрицательный результат: OD пациента < OD cutt-off K,
Положительный результат: OD пациента ≥ OD cutt-off K.
Для детального количественного анализа величина OD каждого пациента может быть выражена в виде “Индекса значения”. Индекс значения рассчитывается делением OD пациента на OD Cut-Off K.

	ANCA-screen (Индекс значения)
Отрицательный	< 1.00
Положительный	≥ 1.00

На расчёт индекса значения не влияют вариации OD образца и OD cut-Off K. Использование индекса значения рекомендуется для долговременного контроля качества (т. е., внутреннего контроля качества).
Для дальнейшей дифференцировки и типирования антител рекомендуется использовать тест-системы для количественного определения анти-PR3 и анти-MPO.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Статистика для коэффициентов корреляции (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов, специфичных для MPO или PR3 в 24 определениях в одной постановке для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 3 различных серий анализов с дифференцировкой по антителам (анти-PR3 или анти-MPO) и определением их титров на 6 микропланшетах по 8 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Значение (индекс)	CV (%)
A1 (MPO)	0,9	9,1
A2 (PR3)	1,8	5,5

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

B1 (MPO)	2,5	6,3
B2 (PR3)	3,1	7,2
C1 (MPO)	4,7	6,7
C2 (PR3)	4,9	5,8
Между сериями		
Образец No	Значение (индекс)	CV (%)
A1 (MPO)	1,1	6,3
A2 (PR3)	1,6	8,7
B1 (MPO)	2,3	7,2
B2 (PR3)	2,8	9,8
C1 (MPO)	3,6	5,5
C2 (PR3)	4,1	6,9

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Микропланшет покрыт антигенами PR3 и MPO, очищенных методом аффинной хроматографии. Тест ANCA-screen специфичен только для аутоантител к этим антигенам. Перекрестных реакций не наблюдалось.

КАЛИБРОВКА

До тех пор, пока не существует международного стандарта для анти-PR3 и анти-MPO, тест-система прокалибрована в относительных арбитражных единицах.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Данный набор Anca-Screen ELISA предназначен для диагностических целей. Однако окончательный диагноз не должен базироваться только на результатах одного теста, но должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

На результаты анализа не оказывал гемолиз (до 1000 мг/дл), липемия (до 3 г/дл триглицеридов) или присутствие билирубина (до 40 мг/дл) в сыворотке. Использование различных коагулянтов также не оказывало влияния. Однако, из практических соображений, не рекомендуется использовать сильно гемолизованные или липемичные образцы.

ЛИТЕРАТУРА

Смотрите английский вариант инструкции.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

ANCA-screen

Контроли **100 µл**	Добавить контролей	или	Образцы **100 µл** проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**

Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ANCAcombi
96 тестов

Кат. № ORG 530

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского оригинала. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANCA-COMBI предназначен для количественного определения антинейтрофильных цитоплазматических аутоантител класса G, направленных к PR3, MPO, BPI, эластазе, катепсину G, лизоциму и лактоферрину. Этот метод предназначен только для диагностики *in vitro*.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Термином «ANCA» (антинейтрофильные цитоплазматические антитела) обозначают антитела, специфичные к цитоплазматическим антигенам гранулоцитов, моноцитов и, возможно, эндотелиальных клеток.

Аутоантитела к внутриклеточным компонентам нейтрофильных гранулоцитов известны уже давно. В 1964 году они были описаны как гранулоцитарный специфический фактор, специфично направленный против ядерных компонентов клетки (GS-ANA). Термин ANCA был введен в 1982 году для описания нескольких пациентов с некротизирующим гломерулонефритом без отложения иммунных комплексов, однако их значение в тот момент было неизвестно. Следующее сообщение о ANCA датируется 1984 годом – данные антитела наблюдались у 4 пациентов с системными васкулитами, трое из них также страдали некротизирующим гломерулонефритом. В 1985 году по результатам совместного исследования в Дании и Нидерландах выявлена высокая чувствительность этих факторов, названных антицитоплазматическими антителами (APCA), при активной форме грануломатоза Вегенера; предлагалось использовать данные антитела в качестве маркера активности заболевания. В 1988 году дальнейшие исследования доказали связь ANCA с грануломатозом Вегенера и узелковым периаритериитом, также отмечено присутствие ANCA у пациентов с малоиммунным (“идиопатическим”) некротизирующим и полулунным гломерулонефритом без признаков внепочечных поражений. Протеиназа 3 (PR3), формирующая цитоплазматический тип свечения (cANCA), описана как основной антиген при грануломатозе Вегенера. Также в 1988 году обнаружено свечение перинуклеолярного типа (pANCA), специфичное для микроскопического полиангиита.

В качестве антигена, обуславливающего данное свечение, сначала была описана только миелопероксидаза (MPO), позднее выявлены и охарактеризованы несколько новых антигенов pANCA: эластаза, катепсин G, лизоцим и лактоферрин.

Между тем, PR3 и MPO хорошо известны как надежные серологические маркеры группы первичных системных васкулитов, также именуемых ANCA-ассоциированными васкулитами. Частота данных заболеваний составляет 1,5 на 1000 человек, среди лиц старшего возраста – около 5 на 1000. Клинически данные заболевания манифестируют поражениями в легких, почках и респираторном тракте.

До настоящего времени скрининг ANCA проводился иммунофлюоресцентным методом, при этом часто интерпретация результатов была затруднительна. Результаты невозможно было воспроизвести с использованием другой клеточной линии нейтрофилов или в других тест-системах, например, иммуноферментных. Также невозможно было определение отдельных антигенов cANCA и pANCA.

Протеиназа 3:

Основной антиген cANCA-реактивности представляет собой нейтральную сериновую протеазу 3 (синонимы – p29, AGP7, аутоантиген Вегенера), принадлежащую семейству трипсина/химотрипсина. В 1988 г. несколько групп исследователей установили, что протеиназа 3 это белок с молекулярной массой 29 кД. Ранее, в 1973 г., данный фермент был описан Ohlsson как нейтрофильная коллагеназа. Антитела к PR3 являются высоко-специфичным серологическим маркером грануломатоза Вегенера (специфичность в начальной фазе составляет 50%, в генерализованной фазе – более 90%). Наблюдается корреляция между концентрацией аутоантител и активностью процесса.

Миелопероксидаза:

Данный фермент впервые был выделен Agner в 1941 году, который называл её «вердопероксидазой» («verdant» - зеленый) за зеленый цвет и способность катализировать пероксидазные реакции. Именно MPO придаёт гною зеленоватый оттенок. Примерно в 60% случаев обнаружения pANCA именно MPO является главным антигеном. Антитела к MPO классифицируются как важнейший маркер такого тяжелого заболевания, как быстро прогрессирующий нефрит. Кроме того, они встречаются у 70-90% пациентов с серьезным повреждением почек. Данные антитела встречаются при синдроме Черга-Стросса, микроскопическом полиангиите (МПА) и других васкулитах. Концентрация аутоантител коррелирует с активностью МПА. МПА характеризуется клинической манифестацией в легких, почках и респираторном тракте, однако эти проявления, в отличие от грануломатоза Вегенера, не носят грануломатозного характера. Специфичность антител к MPO при МПА составляет 60%. Отсутствие аутоантител к MPO и PR3 при одновременном определении антинуклеарных антител может использоваться для дифференциальной диагностики ANCA-ассоциированных васкулитов и васкулитов при СКВ.

BPI:

BPI (бактерицидный белок, увеличивающий проницаемость) представляет собой мембранный белок с молекулярной массой 55 кДальтон и является ANCA-антигеном полиморфноядерных гранулоцитов и моноцитов, связывающих эндотоксин. Аутоантитела к данному антигену в настоящее время классифицируются как cANCA.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Высокое сродство BPI к липополисахаридам обуславливает его бактерицидный эффект в отношение грам-отрицательных бактерий. BPI расщепляется и инактивируется эластазой и другими сериновыми протеазами. Аутоантитела к BPI превалируют над всеми определяемыми при хронических заболеваниях желудочно-кишечного тракта, таких как болезнь Крона и язвенный колит. В отличие от антител к MPO и PR3 антитела к BPI не обнаруживают связи с васкулитами.

Эластаза:

Эластаза представляет собой сериновую протеазу со степенью гомологии 54% по отношению к PR3. Фермент встречается в основном в полиморфноядерных нейтрофильных гранулоцитах, макрофагах и эндотелиальных клетках. Разрушение протеогликанов нейтрофилами обусловлено в основном действием эластазы. Также эластаза играет решающую роль в разрушении тканей при эмфиземе и ревматоидных артритах. Аутоантитела к данному антигену ассоциированы в основном с воспалительными ревматическими заболеваниями, т. е. ревматоидным артритом и васкулитами.

Катепсин G:

Катепсины относятся к группе внутриклеточных протеаз, локализованных в основном в лизосомах, преимущественно в селезенке, печени, почках. Катепсин G представляет собой сериновую протеазу и относится к pANCA-антигенам. Он играет значительную роль в разрушении остеоидной ткани благодаря своим гидролитическим свойствам. Аутоантитела к катепсину G встречаются в основном при коллагенозах и других воспалительных ревматических заболеваниях – СКВ, синдроме Шегрена и синдроме Фелти.

Лизоцим:

Открыт в 1922 г. Александром Флеммингом. Лизоцим представляет собой гликозидазу с молекулярной массой 14,6 кДальтон, состоящую из 129 аминокислотных остатков. Лизоцим разрушает гликозидную связь между между первым атомом углерода *N*-ацетилмурамовой кислоты и четвертым атомом углерода *N*-ацетилглюкозамина в полисахаридах клеточной стенки бактерий, что приводит к гибели микроорганизмов. Фермент локализован в азурофильных и специфических гранулах нейтрофилов, а также в слюне и слезах, где он проявляет бактерицидную активность. Лизоцим является pANCA антигеном, антитела к нему с высокой частотой встречаются при ревматоидных васкулитах и воспалительных заболеваниях кишечника, например, при язвенном колите.

Лактоферрин:

Лактоферрин является железосвязывающим белком с молекулярной массой 77-93 кДальтон, присутствующий в высоких концентрациях в секретах слизистых оболочек, в слезах и молоке. Также лактоферрин присутствует в гранулах полиморфноядерных нейтрофильных лейкоцитов, откуда выделяется экзоцитозом при их активации. Повышенный сывороточный уровень лактоферрина определяется при активных воспалительных процессах. Физиологический антимикробный эффект лактоферрина связан с его железосвязывающей способностью, поскольку железо необходимо большинству бактерий для роста и развития. Лактоферрин ингибирует миелопоэз, предупреждает активацию комплемента и образование гидроксил-радикалов. Вероятно, лактоферрин служит неспецифическим противовоспалительным фактором защиты слизистых наряду с секреторным IgA. Лактоферрин является pANCA антигеном, расположенным в гранулах вокруг ядра при фиксации этанолом.

Аутоантитела к лактоферрину с высокой частотой встречаются у пациентов с ревматоидным васкулитом, язвенным колитом и первичным склерозирующим холангитом.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты PR3, MPO, BPI, эластазой, катепсином G, лизоцимом и лактоферрином. В ходе анализа происходят связывание аутоантител к этим антигеном, присутствующем в разведенном образце сыворотки или плазмы, с соответствующим антигеном. При промывке удаляются все несвязавшиеся компоненты. При последующей инкубации с конъюгатом пероксидазы хрена (HRP) с антителами к человеческим IgG образуется комплекс конъюгат/антитела, присутствующие в образце/антиген. При промывке удаляется несвязавшийся конъюгат. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Добавление кислого стоп-раствора останавливает реакцию, при этом окрашивание меняется на желтое. Интенсивность получившегося желтого окрашивания, измеряемая фотометрически при длине волны 450 нм, прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствующих в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенными антигенами PR3, MPO, BPI, Эластаза, Катепсин G, Лизоцим, Лактоферрин. Готов для использования.	1
Контроли ANCA в фосфатно-белковом матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)) отрицательный (A), контроль Cutt-Off (B) и положительный (C). Готовы для использования.	3 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris буфер, NaN_3<0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат (5x)***.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, Проклин 300<0,5%(v/v)), (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат(50x).***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. отделите сыворотку от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование дезактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28°C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

МЕТОДИКА

1.Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки калибраторов, контролей и разбавленных проб (P) пациентов в дублях.

2.Добавьте **100 µl** калибраторов, контролей и разбавленных проб пациентов в каждую ячейку.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Ряд \ Колонка	1	2	3	4
Смесь антигенов	A	CA	CB	CC	
PR3	B	P1	P2	P3	P..
MPO	C	P1	P2	P3	P..
BPI	D	P1	P2	P3	P..
Эластаза	E	P1	P2	P3	
Катепсин G	F	P1	P2	P3	
Лизоцим	G	P1	P2	P3	
Лактоферрин	H	P1	P2	P3	

CA – CC контроли от A до C
P1, P2 образцы 1, 2,…

3.Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре (20 - 28 °C).

4.Удалите содержимое ячеек и промойте 3 раза **300 µл** промывочного раствора.

5.Добавьте **100 µл** ферментного коньюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

7.Удалите содержимое ячеек и промойте 3 раза **300 µл** промывочным раствором.

8.Добавьте **100 µl** раствора субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9.Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

10.Добавьте **100 µл** стоп-раствора в каждую ячейку и оставьте стоять в течение 5 минут.

11.Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Бихроматическое измерение проводите при 600-650 нм.

Развившаяся окраска стабильна 30 минут.
Считайте оптическую плотность за это время.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного, положительного и cut-off контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оценка результатов теста ANCAcombi проводится сравнением отношения оптической плотности образца каждого пациента с cutt-off контролем. Сначала оптическая плотность образца каждого пациента корректируется по специфичному фактору (факторы специфичны для каждого антигена и указаны в сертификате).

Для каждого из семи антигенов значение индекса образца рассчитывается по формуле:

$$\text{Индекс образца} = \frac{\text{ОП}_{\text{образца}} \times \text{Специфичный фактор}}{\text{ОП}_{\text{Контроля Cut-off}}}$$

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе при определении ANCA. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Образец №	Антиген	Ряд	$ОП_{образца}$	Фактор	$ОП_{Cut-off}$	Индекс	Результат
1	PR3	B	0,083	1,10	0,420	0,22	отрицат
1	MPO	C	0,920	1,00		2,19	положит
1	BP1	D	0,138	1,25		0,41	отрицат
1	Эластаза	E	0,133	0,85		0,27	отрицат
1	Катеп. G	F	0,505	0,75		0,90	отрицат
1	Лизоцим	G	0,420	1,00		1,00	положит
1	Лактоферр.	H	0,112	0,80		0,21	отрицат
2	PK3	B	2,143	1,10	0,420	5,61	сильн.пол.
2	MPO	C	0,240	1,00		0,57	отрицат
2	BP1	D	0,079	1.25		0,24	отрицат
2	...	...	...	...		...	...

Ожидаемые значения

Для каждого параметра образец считается положительным, если его индекс ≥1.0:

	Anca-Combi, OD
Отрицательный:	< 1.0
Положительный:	≥ 1.0

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Специфичность

Микропланшет покрыт антигенами PR3, MPO, BPI, Эластазой, Катепсином G, Лизоцимом и Лактоферрином соответственно, очищенных методом аффинной хроматографии. Тест ANCA combi специфичен только для аутоантител к этим антигенам. Перекрестных реакций не наблюдалось.

Калибровка

До тех пор, пока не существует международного стандарта ANCA, тест-система прокалибрована в арбитражных единицах.

Ограничения метода

Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Интерференции

Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ЛИТЕРАТУРА

1. Hauschild, S.; Schmitt, W.H.; Csernok, E.; Flesch, B. K.; Rautmann, A.; Gross, W.L..
ANCA in systemic vasculitides, collagen vascular diseases, rheumatic disorders and inflammatory bowel diseases. ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects.
Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, pp. 245 - 251.

2. Schmitt, W.H.; Csernok, E.; Flesch, B. K.; Hauschild, Gross, W.L..
Autoantibodies directed against Lysozyme: A new target Antigen for anti-neutrophil cytoplasmatic antibodies (ANCA). ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects.
Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, 267 - 272.

3. Skogh, T. and Peen, E..
Lactoferrin, anti-Lactoferrin antibodies and inflammatory disease. ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects.
Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, pp. 533 - 538.

4. Stoffel, M. P.; Csernok, E.; Herzberg, C.; Johnston, T.; Carroll, S.F. and Gross, W. L..
Anti-neutrophil cytoplasmatic antibodies (ANCA) directed against bactericidal/permeability increasing protein (BPI): a new seromarker for inflammatory bowel disease and associated disorders.
Clin Exp. Immunol. 1996, No. 104, pp. 54 - 59.

5. Zhao, M. H.; Jayne, D. R. W.; Ardiles, L. G.; Culley, F.; Hodson, M.E. and Lockwood.
Autoantibodies against bactericidal/permeabilty increasing protein in patients with cystic fibrosis.
J. Med. 1996, No. 89, pp. 259 - 265.

6. Wiik, A.; Stumman, L.; Kjeldsen, L.; Borregaard, N.; Ullman, S.; Jacobsen, S. and Halberg, P..
The diversity of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA) antigens.
Proceedings of the 6th international ANCA workshop, France - July 1995, pp. 15 - 17.

7. Jenette, J. C. and Falk, R. J..
Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and associated diseas: A review.
Am. J. of Kidney Disease 1990, Vol XV, No. 6, pp. 517 - 529.

8. Schmitt, W. H. and Gross, W. L.. Antineutrophile zytoplasmatische Antikörper (ANCA).
Internist 1995, No. 36, pp. 282 - 290.

9. Gross, W. L. and Rheinhold-Keller, E..
ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg-Strauß-Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) - 1. Systematik, Pathogenese and Klinik.
Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 279 - 290.

de Grot, K.; Schnabel, A. and Gross, W. L..
ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg-Strauß-Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) - 1. Diagnostisches Procedere.
Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 291 - 302.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
ANCAcombi

Добавить Контроли	или	Образцы
100 µл контролей		**7 x 100 µл** проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**

Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

AMA-M2

Кат. Номер ORG 516

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского оригинала. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC AMA-M2 предназначен для голичественного определения аутоантител классов G против митохондриального антигена M2 субтипа. Этот метод предназначен для диагностики *in vitro* риска тромбоза и привычной потери плода.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Анти-митоходриальные антитела (AMA) - гетерогенная группа аутоантител против различных белков, расположенных на внутренней и внешней мембране митохондрии. Их основные антигены находятся в тканях. Кроме неорганоспецифичных субтипов антител описаны антитела проявляющие высокую органоспецичность.

При использовании флуоресцентной техники на срезах различных органов, а именно, печени, желудка, почек, сердца и поджелудочной железы, митохондриальные аутоантитела могут распознаваться с различной специфичностью. Для некоторых AMA субтипов их специфический белок-мишень остается еще неизвестным. Специфические анти-митохондриальные антитела описаны для первичного билиарного цирроза как субтипы M2, M4, M8 и M9. Другие AMA субтипы связаны с другими болезнями, такими как коллагенозы (AMA-M5), лекарственной красной волчанкой и гепатитами (AMA-M3 и AMA-M6).

Гетерогенно реагирующие специфические анти-митохондриальные антитела M2 субтипа направлены против трех связанных белков α-кетодегидрогеназного комплекса, расположенного на внутренней митохондриальной мембране. Основным эпитопом является расположенный на E2 субъединице и протеине X пируватдегидрогеназный комплекс (ПДК).

Кроме того, AMA-M2 аутоантитела распознают E1α и E1β субъединицы этого комплекса и E2 субъединицу нескольких других мультиферментных комплексов, таких как 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса и дегидрогеназного комплекса 2-оксокислоты с разветвленной цепью.

При использовании метода непрямой иммунофлюоресценции с монослоем клеток линии HEp 2 AMA-M2 аутоантитела идентифицируются с мелко-крапчатым цитоплазматическим, перинуклеарным конденсированным свечением.

Определение AMA-M2 с помощью иммуноферментного анализа рекомендуется для дифференциального диагноза первичного билиарного цирроза (ПБЦ), так как этот метод очень высокочувствительный и специфичный.

У пациентов с другими аутоиммунными заболеваниями определение AMA аутоантител позволяет проводить ранний скрининг для определения субтипов M2 и M9 антител, которые могут быть связаны с развитием и/или с ассоциированными заболеваниями ПБЦ.

Профиль AMA субтипов позволяет провести иммунологическую и прогностическую классификацию первичного билиарного цирроза. Первые симптомы ПБС часто связаны только с появлением AMA-M2 антител (иногда в комбинации с AMA-M9), тогда как прогрессивное течение болезни и смешанные синдромы с хроническими активными гепатитами связаны с появлением AMA-M2, -M4 и -M8 субтипов антител.

AMA субтип	Ауто-антигены	Локализация	Клиническое значение
M1	кардиолипин	внутренняя часть митохондриальной мембраны	сифилис-II
M2	белки α-кетодегидро-геназного комплекса	внутренняя часть митохондриальной мембраны	первичный билиарный цирроз (ПБЦ)
M3		наружная часть митохондриальной мембраны	лекарственная красная волчанка (пиразолон)
M4	ассоциированы с сульфи-токсидазой	наружная часть митохондриальной мембраны	ПБЦ
M5		наружная часть митохондриальной мембраны	системная красная волчанка и недифферен-цированные коллагенозы, аутоиммунная гемолитиче-ская анемия
M6		наружная часть митохондриальной мембраны	лекарственны е токсические гепатиты (ипрониазид)

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

M7	саркозин-дегидрогеназа	внутренняя часть митохондриальной мембраны	кардио-миопатия, миокардиты
M8		наружная часть митохондриальной мембраны	ПБЦ
M9	ассоциированы с гликогенфосфорилазой	наружная часть митохондриальной мембраны (вероятно, также цитоплазматическая)	ПБЦ

ПРИНЦИП МЕТОДА

Настоящий набор использует принцип непрямого твердофазного ИФА - ELISA. Он разработан для количественного измерения антител класса IgG против митохондриального антигена М2 субтипа. Микроячейки покрыты митохондриальным М2-антигеном.

Планшет может быть разделен на 12 стрипов по 8 ячеек каждый или может быть использован сразу для 96 определений. Каждая ячейка может быть отделена от стрипа ("break-away").

В ходе анализа проходят связывание аналита, образование сэндвичего комплекса и ферментная цветная реакция в следующих фазах реакции:

Фаза 1:

Стандарты, контроли и предварительно разбавленные пробы сыворотки пациентов вносятся в микроячейки. Присутствующие антитела связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. После 30-минутной инкубации ячейки промываются, при этом промывочный раствор удаляет несвязавшиеся компоненты сыворотки.

Фаза 2:

Раствор коньюгата анти-человечьего-IgG-пероксидаза хрена добавляется в ячейки для определения антител, связанных с иммобилизованными антигенами. После 15-минутной инкубации несвязавшийся ферментный коньюгат удаляется промывочным буфером.

Фаза 3:

Хромогенный раствор субстрата, содержащий ТМБ, добавляется в ячейки. В течение 15-минутной инкубации цвет раствора становится голубым. Развитие окраски останавливается добавлением раствора фосфорной кислотыв качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG в образце. Строится график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации IgG, и концентрация неизвестных образцов экстраполируется из него.

Требуется считать оптическую плотность при 450 нм. Рекомендуется бихроматический режим с фильтром сравнения 600 - 650 нм.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенным митохондриальным антигеном субтипа М2. Готов к использованию.	1
Калибраторы AMA-M2 в сывороточно/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие: 0; 12.5; 25; 50, 100 и 200 МЕ/мл. Готовы к использованию.	6 флаконов по 1,5 мл каждый
Контроли AMA-M2 в сывороточно/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), (положительный и отрицательный), см. вкладыш со значениями. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3‹0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат (5х)***	1 флакон 20 мл

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, PROCLIN 300<0,5%(v/v)), (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG-IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. отделите сыворотку от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование дезактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28^{o}C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.
2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Калибраторы									
No	Позиция	ОП 1	ОП 2	Ср.значение	Конц 1	Конц 2	Средне-ее	Ожид. конц	CV %
STA	A 1/ B 1	0,013	0,011	0,012	0,1	0,1	0,0	0,0	12
STB	C 1/ D 1	0,437	0,422	0,430	12,9	12,4	12,6	12,5	2
STC	E 1/ F 1	0,741	0,720	0,731	25	24	25	25	2
STD	G 1/ H 1	1,174	1,148	1,161	50	48	49	50	2
STE	A 2/ B 2	1,700	1,701	1,701	102	103	102	100	0
STF	C 2/ D 2	2,173	2,143	2,158	202	193	197	200	1

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре (20-28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного и положительного контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов

Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации и log-log координаты.
Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага.

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При изучении образцов сыворотки здоровых доноров крови был установлен следующий диапазон нормальных значений для набора AMA-M2:

	AMA-M2 [МЕ/мл]
нормальные:	< 10
повышенные:	≥ 10

Положительные результаты должны быть выверены относительно полной картины клинического статуса пациента. Также каждое терапевтическое решение должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии сывороточных набора AMA-M2.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы набором AMA-M2. Доказана линейность во всем измеряемом диапазоне.

Воспроизводимость

Статистика была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одиночном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных анализов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	39.8	7.0
2	81.3	3.8
3	177.3	3.6

между сериями		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	40.1	6.2
2	84.6	
3	180.4	3.8

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Чувствительность
Минимально детектируемый предел для антител AMA-M2 - 1 МЕ/мл.

Специфичность
Ячейки микропланшета покрыты высокоочищенным митохондриальным антигеном субтипа М2. Обнаружено, что набор AMA-M2 специфичен только к аутоантителам, специфичным для белков дегидрогеназного комплекса α-кето кислот. Никаких перекрестных реакций к другим митохондриальным аутоантигенам не наблюдалось.

Калибровка
Тест-система прокалибрована по стандарту ВОЗ 67/183 при 100 МЕ/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Тест-система ORGENTEC AMA-M2 ELISA может быть использована как часть диагностической процедуры, но сама по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ВЛИЯЮЩИЕ 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.

Литература

1. Berg, P.A. and Klein, R.
Diagnose der primдr-bilidren Zirrhose.
In vitro Diagnostika Nachrichten 1990; 1/1: 6 - 7.

2. Berg, P.A. and Klein, R.
Heterogeneity of anti-mitochondrial antibodies.
Seminars in Liver Disease 1989; 9: 103 - 116.

3. Berg, P.A. and Klein, R.
Immunology of primary biliary cirrhosis.
Balliire's Clin. Gastroenterol. 1987; 1: 675 - 706.

4 Baum, H. and Palmer, C.
The PBC specific antigen.
Mol. Aspects Med. 1985; 8: 201 - 234.

5. Fussey, S.P.M., Guest, J.R., James, O.F W. et al.
Identification and analysis of the major M2 autoantigens in primary biliary cirrhosis.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1988; 85: 8654 - 8658.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

АМА-М2

Добавить	Добавить
100 µл калибраторов в ячейки	**100 µл** контролей или проб пациентов в ячейки

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и промыть 3 раза 300 µл промывочного буфера

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и промыть 3 раза 300 µл промывочного буфера

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Дать постоять в течение **5 минут**

Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

ORGENTEC

CE

523_3

ORG 523 Anti-BPI

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Anti-BPI - это тест-система ELISA для количественного измерения аутоантител класса IgG к белку, повышающему бактерицидную проницаемость, BPI, в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики.
Аутоантитела против бактерицидного белка, повышающего проницаемость (BPI), относятся к антинейтрофильным цитоплазматическим антителам (ANCA).Они возникают при различных заболеваниях различной этиологии, например, муковисцидозе, воспалительных заболеваниях кишечника, реактивном артрите. Вместе с другими клиническими и лабораторными данными они способствуют дифференциации васкулита, ассоциированного с ANCA, от васкулита, связанного с другими заболеваниями.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
523_3	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR A	Калибратор
CALIBRATOR B	Калибратор
CALIBRATOR C	Калибратор
CALIBRATOR D	Калибратор
CALIBRATOR E	Калибратор
CALIBRATOR F	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE	Ферментный конъюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Высокоочищенный BPI абсорбирован на поверхности микропланшетных лунок.
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами: Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 523	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Код продукта на модуле: **BPI**
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 0 Ед/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 6,3 Ед/мл, содержащий BPI в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 12,5 Ед/мл, содержащий BPI в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 25 Ед/мл, содержащий BPI в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 50 Ед/мл, содержащий BPI в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F	1x 1.5 ml	Калибратор F 100 Ед/мл, содержащий BPI в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 ml	Контроль положительный, содержащий BPI в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA,детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий BPI в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Дилюент P, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий античеловеческие IgG-антитела, меченные HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления.

Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.

- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.
Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

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

P1, ... Проба пациента A-F Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.
Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Калибровка

Эта система анализа откалибрована в условных единицах, поскольку для этого анализа не существует международного эталонного препарата.

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет 0 - 100 U/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off 10 U/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный: < 10 U/ml
Положительный: ≥ 10 U/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый U/ml	Ожидаемый U/ml	H/O [%]
1	1:100	92.5	92.5	100
.	1:200	47.5	46.3	103
.	1:400	23.5	23.1	102
.	1:800	10.8	11.6	93
.	1:1600	5.0	5.8	86
2	1:100	56.1	55.8	101
.	1:200	28.4	27.9	102
.	1:400	13.8	14.0	99
.	1:800	6.5	7.0	93
.	1:1600	3.1	3.5	89

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: 0.5 U/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.
Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	10.5	2.4
2	28.7	3.0
3	55.8	4.8

Анализ между сериями		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	10.9	2.9
2	26.4	3.5
3	54.3	5.5

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	IFA	n	n Поз	%
ANCA васкулит	Поз	54	12	22.2
Другие условия	Поз	35	14	40.0
Не-ANCA васкулит	Поз	13	4	30.8
Здоровый контроль	Нег	120	0	0.0
Неревматологические	Нег	72	10	13.9
Не-ANCA васкулит	Нег	42	6	14.3

Иммунологическая диагностика

		Поз	Нег	
ORG 523	Поз	30	16	
	Нег	72	218	
		102	234	336

Чувствительность: 29.4 %
Особенность: 93.2 %

Общая достоверность: 73.8 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Приведенные выше патологические и нормальные референтные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Hauschild, S.; Schmitt,W.H.; Csernok, E.; Flesch,B. K.; Rautmann, A.; Gross,W.L. ANCA in systemic vasculitides, collagen vascular diseases, rheumatic disorders and inflammatory bowel diseases. ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press,New York, 1993, pp. 245 - 251.
2. Schmitt, W.H.; Csernok, E.; Flesch, B. K.; Hauschild, S., Gross, W.L. Autoantibodies directed against Lysozyme: A new target Antigen for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, 267 - 272.
3. Skogh, T. and Peen, E. Lactoferrin, Anti-Lactoferrin antibodies and inflammatory disease. ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, pp. 533 - 538.
4. Stoffel, M. P.; Csernok, E.; Herzberg, C.; Johnston, T.; Carroll, S.F. and Gross, W. L. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against bacteri-cidal/permeability increasing protein (BPI): a new seromarker for inflammatory bowel disease and associated disorders. Clin. Exp. Immunol. 1996, No. 104, pp. 54 - 59.
5. Zhao, M. H.; Jayne, D. R. W.; Ardiles, L. G.; Culley, F.; Hodson, M.E. and Lockwood. Autoantibodies against bactericidal/permeabilty increasing protein in patients with cystic fibrosis. J. Med. 1996, No. 89, pp. 259 - 265.
6. Wiik, A.; Stumman, L.; Kjeldsen, L.; Borregaard, N.; Ullman, S.; Jacobsen, S. and Halberg, P. The diversity of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA) antigens. Proceedings of the 6th international ANCA workshop, France - July 1995, pp. 15 - 17.
7. Jenette, J. C. and Falk, R. J. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and associated disease: A review. Am. J. of Kidney Disease 1990, Vol. XV, No. 6, pp. 517 - 529.
8. Schmitt, W. H. and Gross, W.L. Antineutrophil zytoplasmatische Antikörper (ANCA). Internist 1995, No. 36, pp. 282 - 290.
9. Gross, W.L. and Rheinhold-Keller, E. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg-Strauss-Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) – 1. Systematik, Pathogenese und Klinik. Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 279 - 290.
10. de Grot, K.; Schnabel, A. and Gross, W. L. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg-Strauss-Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) - 1. Diagnostisches Procedere. Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 291 - 302.
11. Schultz H, Weiss JP: The bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) in infection and inflammatory disease. Clin Chim Acta 2007, 384:12-23.
12. Schultz H: From infection to autoimmunity: a new model for induction of ANCA against the bactericidal/permeability increasing protein (BPI). Autoimmun.Rev 2007, 6:223-227.
13. Talor MV, Stone JH, Stebbing J, Barin J, Rose NR, Burek CL: Antibodies to selected minor target antigens in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Clin.Exp.Immunol. 2007, 150:42-48.

Уведомление для пользователя (Европейский союз):

О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль

Прежняя версия:*ORG 523_IFU_EN_QM113157_2013-12-16_1.2* Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

525_3

ORG 525 Anti-Cathepsin G

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Anti-Cathepsin G (Анти-Катепсин G) представляет собой тест-систему ELISA для количественного измерения аутоантител класса IgG к катепсину G в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики.
Аутоантитела против катепсина G возникают при заболеваниях соединительной ткани и других связанных с ними воспалительных ревматических расстройствах, например системной красной волчанке (СКВ), синдроме Шегрена и синдроме Фелти. Определение Anti-Cathepsin G помогает в дифференциальной диагностике этих заболеваний при использовании в сочетании с другими лабораторными и клиническими данными.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
Σ 96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
525_3	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR A	Калибратор
CALIBRATOR B	Калибратор
CALIBRATOR C	Калибратор
CALIBRATOR D	Калибратор
CALIBRATOR E	Калибратор
CALIBRATOR F	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE	Ферментный конъюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Высокоочищенный катепсин G абсорбирована на поверхности микропланшетных лунок.
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами: Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 525	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Код продукта на модуле: CAT
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 0 Ед/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 6,3 Ед/мл, содержащий антитела к Катепсину G в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 12,5 Ед/мл, содержащий антитела к Катепсину G в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 25 Ед/мл, содержащий антитела к Катепсину G в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 50 Ед/мл, содержащий антитела к Катепсину G клеткам в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F	1x 1.5 ml	Калибратор F 100 Ед/мл, содержащий антитела к Катепсину G в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 ml	Контроль положительный, содержащий антитела к Катепсину G в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA,детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий антитела к Катепсину G в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Дилюент P, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий античеловеческие IgG-антитела, меченные HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления.

Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.

- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.
Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

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

P1, ... Проба пациента A-F Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.
Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Калибровка

Эта система анализа откалибрована в условных единицах, поскольку для этого анализа не существует международного эталонного препарата.

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет 0 - 100 U/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off 10 U/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный: < 10 U/ml
Положительный: ≥ 10 U/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый U/ml	Ожидаемый U/ml	H/O [%]
1	1:100	85.4	85.4	100
.	1:200	43.1	42.7	101
.	1:400	21.8	21.4	102
.	1:800	10.3	10.7	96
.	1:1600	4.8	5.3	91
2	1:100	78.9	78.9	100
.	1:200	40.2	39.5	102
.	1:400	20.0	19.7	102
.	1:800	9.7	9.9	98
.	1:1600	4.5	4.9	92

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: 0.5 U/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.
Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	11.1	5.7
2	25.8	3.1
3	60.4	4.2

Анализ между сериями		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	11.5	6.3
2	26.2	3.3
3	56.9	4.5

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	IFA	n	n Поз	%
ANCA васкулит	Поз	54	23	42.6
Другие условия	Поз	35	26	74.3
Не-ANCA васкулит	Поз	13	8	61.5
Здоровый контроль	Нег	120	0	0.0
Неревматологические	Нег	72	16	22.2
Не-ANCA васкулит	Нег	42	13	31.0

Иммунологическая диагностика

ORG 525	Поз	Нег
Поз	57	29
Нег	45	205
	102	234	336

Чувствительность:	55.9	%
Специфичность:	87.6	%
Общая достоверность:	78.0	%

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Приведенные выше патологические и нормальные референтные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Hauschild, S.; Schmitt,W.H.; Csernok, E.; Flesch,B. K.; Rautmann, A.; Gross,W.L. ANCA in systemic vasculitides, collagen vascular diseases, rheumatic disorders and inflammatory bowel diseases. ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press,New York, 1993, pp. 245 - 251.
2. Schmitt, W.H.; Csernok, E.; Flesch, B. K.; Hauschild, S., Gross, W.L. Autoantibodies directed against Lysozyme: A new target Antigen for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, 267 - 272.
3. Skogh, T. and Peen, E. Lactoferrin, Anti-Lactoferrin antibodies and inflammatory disease. ANCA-associated Vasculitides: Immunological and clinical aspects. Edited by W. L. Gross, Plenum Press, New York, 1993, pp. 533 - 538.
4. Stoffel, M. P.; Csernok, E.; Herzberg, C.; Johnston, T.; Carroll, S.F. and Gross, W. L. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against bacteri-cidal/permeability increasing protein (BPI): a new seromarker for inflammatory bowel disease and associated disorders. Clin. Exp. Immunol. 1996, No. 104, pp. 54 - 59.
5. Zhao, M. H.; Jayne, D. R. W.; Ardiles, L. G.; Culley, F.; Hodson, M.E. and Lockwood. Autoantibodies against bactericidal/permeabilty increasing protein in patients with cystic fibrosis. J. Med. 1996, No. 89, pp. 259 - 265.
6. Wiik, A.; Stumman, L.; Kjeldsen, L.; Borregaard, N.; Ullman, S.; Jacobsen, S. and Halberg, P. The diversity of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA) antigens. Proceedings of the 6th international ANCA workshop, France - July 1995, pp. 15 - 17.
7. Jenette, J. C. and Falk, R. J. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and associated disease: A review. Am. J. of Kidney Disease 1990, Vol. XV, No. 6, pp. 517 - 529.
8. Schmitt, W. H. and Gross, W.L. Antineutrophil zytoplasmatische Antikörper (ANCA). Internist 1995, No. 36, pp. 282 - 290.
9. Gross, W.L. and Rheinhold-Keller, E. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg-Strauss-Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) – 1. Systematik, Pathogenese und Klinik. Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 279 - 290.
10. de Grot, K.; Schnabel, A. and Gross, W. L. ANCA-assoziierte Vaskulitiden (Wegener Granulomatose, Churg-Strauss-Syndrom, Mikroskopische Polyangiitis) - 1. Diagnostisches Procedere. Z. Rheumatol (1995), No. 54, pp. 291 - 302.
11. Talor MV, Stone JH, Stebbing J, Barin J, Rose NR, Burek CL: Antibodies to selected minor target antigens in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Clin.Exp.Immunol. 2007, 150:42-48.

Уведомление для пользователя (Европейский союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль
Прежняя версия:*ORG 525_IFU_EN_QM113159_2013-12-16_1.2* Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ASCA IgG/IgA

Кат. Номер ORG 545

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для количественного определения антител класса IgG и IgA к маннан *Saccharomyces cerevisiae* методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) в сыворотке и плазме человека. Метод предназначен только для диагностики in vitro и должен использоваться только в целях диагностики болезни Крона.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Точная диагностика заболеваний внутренних органов человека (IBD), в частности, дифференциальная диагностика между двумя основными заболеваниями, язвенным колитом и болезнью Крона, важна для адекватного лечения и прогноза. Язвенный колит характеризуется воспалением и язвами верхнего слоя внутренней поверхности толстой и прямой кишки. Болезнь Крона вызывает широко распространенное воспаление желудочно-кишечного тракта с образованием гранулем, глубоко проникающих в пораженную ткань. Воспаление при болезни Крона асимметричное и сегментальное, с областями здоровых и пораженных тканей, в отличие от язвенного колита, при котором воспаление симметрично и непрерывно от проксимального отдела прямой кишки [1]. Для дифференциальной диагностики болезни Крона и язвенного колита могул быть использованы определения ANCA (антитела к цитоплазме нейтрофилов) и ASCA (антитела к *Saccharomyces cerevisiae*). ASCA направлены к олигосахаридным эпитопам маннан клеточной стенки (фосфопептидоманнан) дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [2]. IgG, также как IgA ASCA имеют примерно 95-100% специфичности по отношению к болезни Крона. ASCA строго ассоциированы с болезнью Крона. Исследования показали только 5% ASCA IgG-положительных и 7% ASCA IgA-положительных результатов при язвенном колите, тогда как при болезни Крона чувствительность составляет 75% для IgG ASCA и 60% для IgA ASCA [3, 4]. Встречаемость атипичной ANCA (aANCA) при болезни Крона более редкая по сравнению с язвенным колитом. Распространенность ANCA варьирует от 50% до 90% при язвенном колите и от 10% до 20% при болезни Крона [5]. Комбинация двух серологических тестов делает возможной быструю и неинвазивную дифференциальную диагностику болезни Крона и язвенного колита.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Анализ проводится в микропланшете, покрытом особо чистым препаратом маннан *Saccharomyces cerevisiae*. Присутствующие в образцах антитела связываются с иммобилизованными в микроячейках антигеном. При промывке удаляют не связавшиеся компоненты сыворотки. Конъюгат антител к IgG или IgA человека с пероксидазой хрена добавляется в ячейки и иммунологически связывается с антителами из сывороток пациентов, связанных с иммобилизованными антигенами, в результате чего образуется комплекс конъюгат/антитело/антиген. Избыток ферментного конъюгата удаляется при следующей промывке. Раствор хромогенного субстрата в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением 1М соляной кислоты в качестве стоп-раствора, при этом Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого окрашивания определяют фотометрически при 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG или IgA антител в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. 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 мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. Он способен образовывать взрывоопасные соединения при длительном контакте с медью или свинцом. При использовании реагентов, содержащих азид натрия необходимо наличие большого количества воды. Азид натрия может быть токсичен при попадании внутрь организма. В концентрациях, присутствующих в реагентах, он не токсичен. Несмотря на классификацию как не токсичного вещества, мы настоятельно рекомендуем следовать обычной лабораторной практике обращения с опасными веществами (см. 8., 9., 10).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При выливании реагентов, содержащих Proclin 300, необходимо смывать большим количеством воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
8. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9. Не отбирайте образцы ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

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.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых особо чистым препаратом маннан *Saccharomyces cerevisiae.* Готов к использованию.	1
Калибраторы с IgG и IgA антителами ASCA (A-F) в сывороточно/буферном (PBS/BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе, содержащие IgG: 0; 6.3; 12.5; 25; 50; 100 Ед/мл, IgA: 0; 6.3; 12.5; 25; 50; 100 Ед/мл. Готовы к использованию	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к ASCA в сывороточно-буферном (PBS/BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе, положительный (1) и отрицательный (2), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат 5***x	1 флакон 20 мл
Раствор (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готовы к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgA антитела, меченые пероксидазой хрена. Готовы к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готовы к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат 50*x,** Готов к использованию	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C в их оригинальной упаковке
2. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
4. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.
5. Разведенные буфер для промывок и буфер для образцов стабильны при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Вортекс
- Многоканальные пипетки или дозаторы на 100 мкл
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Лабораторный таймер
- программное обеспечение для анализа данных

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Наносите все образцы на дно лунок
8. Для избежания переходящей контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
9. Для достижения наилучших результатов необходима тщательная промывка. После промывки тщательно удалите остатки буфера из лунок.
10. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
11. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.
12. Не используйте повторно стрипы микропланшета.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. С использованием этих концентраций может быть построена калибровочная кривая и проведена полуколичественная оценка образцов сывороток пациентов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Приготовление образцов
Разбавьте все образцы сывороток пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте.
Контроли и стандарты готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре (20-28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1) Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и F полностью совпадают 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах. Также возможно использование логарифмических координат и аппроксимации сплайнами.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах
Рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерения в дублях, и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых антител в образцах пациентов.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании нормального диапазона значений в сыворотках здоровых доноров данным методом получены следующие значения:

ASCA :	IgA [Ед/мл]	IgG [Ед/мл]
норма:	< 10	< 10
повышенные значения:	> 10	> 10

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии ASCA.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
Разведения трех сывороток были проанализированы двумя наборами. Результаты приведены в таблицах.

ASCA IgG			
Образец №	Разведение	Полученное [Ед/мл]	П/О
1	1:100	98,0	100 %
	1:200	43,0	88%
	1:400	20,5	84%
2	1:100	85,8	100%
	1:200	36,1	84%
	1:400	17,4	81%
3	1:100	46,3	100%
	1:200	20,9	90%
	1:400	9,8	85%

ASCA IgA			
Образец №	Разведение	Полученное [Ед/мл]	П/О
1	1:100	28,7	100%
	1:200	15,1	105%
	1:400	7,5	105%
2	1:100	30,6	100%
	1:200	16,1	105%
	1:400	8,4	110%
3	1:100	37,1	100%

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

	1:200	15,3	82%
	1:400	5,8	63%

Воспроизводимость

Статистика для коэффициентов вариации (CV) была рассчитана для каждого из 4 образцов в 32 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии, воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 3 различных опытов по 24 определений каждого образца:

ASCA IgG, **Внутри серии**

Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	9.6	4.3
2	19.3	6.6
3	76.5	8.8

ASCA IgA, **Внутри серии**

Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	5.1	5.2
2	26.8	6.5
3	66.4	6.1

ASCA IgG, **Между сериями**

Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	10.5	7.1
2	31.2	3.8
3	67.3	7.5

ASCA IgA, **Между сериями**

Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	5.9	6.6
2	29.1	6.0
3	81.2	6.4

Чувствительность

Нижняя граница определения для ASCA составляет 1 Ед/мл.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Микропланшет покрыт особо чистым препаратом маннан *Saccharomyces cerevisiae*. Тест специфичен только по отношению к аутоантителам к этому фосфопептиду.

КАЛИБРОВКА

Поскольку не существует международно-признанного стандарта ASCA, тест-система прокалибрована в относительных единицах.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

1. ASCA ELISA может быть использован в диагностических целях, но сам по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.
2. Отрицательный результат не является гарантией отсутствия болезни Крона.
3. Положительный результат не обязательно указывает на наличие болезни Крона.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

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.

ЛИТЕРАТУРА

1. Merck Manual of Diagnosis and Therapy. 1999. Whitehouse Station, NJ. (www.merck.com/pubs/mmanual).
2. Sendid, B., J.F. Colombel, P.M. Jacquinot, C. Faille, J. Fruit, A. Cortot, D. Lucidarme, D. Camus, and D. Poulain. Specific antibody response to oligomannosidic epitopes in Crohn´s Disease. Clin. Diag. Lab. Immunol., 1996, 3(2):219-226.
3. Main, J., H. McKenzie, G.R. Yeaman, M.A. Kjerr, D. Robson, and C.R. Pennington. Antibody to Saccharomyces cerevisiaev (baker´s yeast) in Crohn´s disease. Brit. J. Med., 1988, 297:1105-1106.
4. McKenzie, H., J. Main, C.R. Pennington, and D. Parrat. Antibody to selected strains of Saccharomyces cerevisiae (baker´s and brewer´s yeast) and Candida albicans in Crohn´s diasease. Gut, 1990, 31:536-538.
5. Quinton, J.-F., B. Sendid, D. Reumaux, P. Duthilleul, A. Cortot, B. Grandbastien, G. Charrier, S.R. Targan, J.-F. Colombel, and D. Poulain. Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. Gut, 1998, 42:788-791.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
ASCA

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

→ Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

→ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

→ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

→ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ

→ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

→ Выдержите **5 минут**

→ Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-Cardiolipin IgG/IgM

96 тестов
Кат. № ORG 515

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и на английском языках не совпадают, обратитесь за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор Anti-Cardiolipin IgG/IgM предназначен для количественного определения IgG и IgM аутоантител к кардиолипину в сыворотке или плазме человека методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Набор предназначен только для диагностики *in vitro,* и может быть использован при диагностике повышенного риска возникновения тромбоза у пациентов, страдающих системной красной волчанкой (SLE) или другими заболеваниями этой группы.

ВВЕДЕНИЕ

Кардиолипин (дифосфатидилглицерин) относится к группе отрицательно заряженных фосфолипидов. Антитела к этим фосфолипидам часто (но не обязательно) выполняют роль волчаночного антикоагулянта - антител, вызывающих удлинение клоттинговых тестов.

Антитела к кардиолипину обнаруживаются при различных аутоиммунных заболеваниях. Их присутствие у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) ассоциируется с развитием тромбозов и тромбоцитопений, в гинекологии они являются причиной внутриутробной гибели плода или привычного выкидыша. Антикардиолипиновые антитела также обнаруживаются при нетромботических неврологических расстройствах - таких как цереброваскулярная недостаточность, ишемия мозга, хорея и инфаркт миокарда.

Антитела к кардиолипину могут относиться к классам IgG, IgM и IgA. Обнаружение антител класса IgM является индикатором начинающихся аутоиммунных заболеваний, в то время как антитела класса IgG обнаруживаются при обострении и прогрессировании ранее манифестировавших аутоиммунных процессов. Титры антител к кардиолипину класса IgG хорошо коррелируют с клиническим состоянием пациентов с тромбозом, тромбоцитопенией, хроническим невынашиванием беременности и некоторыми неврологическими расстройствами. Антитела к кардиолипину класса IgA часто обнаруживаются совместно с IgG-антителами. Вероятнее всего, что определение IgA-антител является более информативным в отношении развития тромбоза и угрозы выкидыша.

Большинство заболеваний, связанных с антикардиолипиновыми антителами, -это тромбоз глубоких вен и другие тромботические расстройства. Антитела к кардиолипину обнаруживаются в сыворотке примерно у 60% пациентов с СКВ. Наличие этих антител свидетельствует о высоком риске развития тромбоэмболии и тромбоцитопении.

В гинекологии антитела к кардиолипину являются хорошим прогностическим фактором внутриматочной гибели плода или привычного выкидыша. Рекомендуется плановое определение антител к кардиолипину у беременных с СКВ или тромбозом для оценки риска осложнений беременности. Количественное определение антикардиолипиновых антител, особенно IgG, является высокоспецифичным индикатором эффективности проводимой терапии.

Присутствие антикардиолипиновых антител описывается у пациентов с неврологической патологией. Тромбоз церебральных сосудов может вызывать ишемию мозга. Нетромботические патологии ЦНС, например, хорея или эпилепсия, также ассоциируются с наличием антикардиолипиновых антител.

Показано, что антитела к кардиолипину не обнаруживают корреляции с результатами теста VDRL (реакция Вассермана) на сифилис и также не обнаруживают перекрестной реактивности с антителами к ДНК, так как принадлежат к другому типу антител.

Последние исследования обнаружили, что для связывания антител к кардиолипину с антигеном требуется сывороточный кофактор - β_2-гликопротеин I (аполипопротеин H), который представляет собой β_2-глобулин с молекулярной массой 50 кД, присутствующий в плазме в количестве 200 мкг/мл. β_2-гликопротеин I *in vivo* ассоциирован с липопротеинами, отрицательно заряженными фосфолипидами, тромбоцитами и митохондриями. Найдено, что β_2-гликопротеин I ингибирует внутренний путь свертывания и АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов. Таким образом, предполагается участие β_2-гликопротеина I в регуляции свертывания крови.

Наличие β_2-гликопротеина I является необходимым условием связывания антител к кардиолипину с кардиолипином. Антикардиолипиновые антитела распознают как сам кардиолипин, так и его комплекс с β_2-гликопротеином I.

Для ИФА-тестов необходимая концентрация β_2-гликопротеина I создается добавлением очищенного β_2-гликопротеина I в лунки микропланшета, что обеспечивает качество и воспроизводимость получаемых результатов.

Показания для исследования антител к кардиолипину:

- Системная красная волчанка
- Тромбозы
- Тромбоцитопения
- Ишемия мозга
- Хорея
- Эпилепсия
- Внутриматочная гибель плода
- Привычное невынашивание беременности

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокоочищенным бычьим кардиолипином. Антитела к кардиолипину требуют в качестве кофактора β_2-гликопротеин I, поэтому ячейки насыщены высокоочищенным человеческим β_2-гликопротеином I. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела к IgG и IgM человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG и IgM антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены только для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2.. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим соляную кислоту (1М). Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN_3) – это вещество, токсичное и активное в чистом виде. Однако концентрации, содержащиеся в поставляемых реагентах, не представляют опасности. Несмотря на то, что они считаются не опасными, производитель рекомендует соблюдать соответствующие предосторожности при работе с реагентами (см. п.п. 8, 9, 10)
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 а в качестве консерванта. При утидизации реагентов, содержащих Proclin 300, промывайте водопроводную систему большим количеством воды, чтобы развети компоненты ниже активных уровней.
8. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенным человеческим кардиолипином и насыщенных высокоочищенным человеческим β_2-гликопротеином I. Готов к использованию.	1
Комбинированные калибраторы с антителами к кардиолипину классов IgG и IgM (A-F) в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN_3 <0,1% (w/w)), содержащие: IgG: 0; 7.5; 15; 30; 60; 120 GPL Ед/мл и IgM: 0 , 5; 10; 20; 40; 80 MPL Ед/мл Готовы к использованию.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к кардиолипину классов G, M в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN_3 <0,1% (w/w)), содержащие позитивный Контроль (1) и негативный Контроль (2), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN_3 <0,1% (w/w)), желтый, концентрат 5х.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (светло-красный) (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие анти-IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор ферментного коньюгата (светло-красный) (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие анти-IgM антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), концентрат 50х	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °С
2. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
4. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.
5. Разведенные буфер для промывок и буфер для образцов стабильны при 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный дозатор или диспенсер на 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечения для расчета результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °С по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°С.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°С) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Наносите все образцы на дно лунок
8. Для избежания контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
9. Для достижения наилучших результатов необходима тщательная промывка. После промывки тщательно удалите остатки буфера из лунок.
10. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
11. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.
12. Не используйте повторно стрипы микропланшета.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации можно построить калибровочную кривую и провести полуколичественную оценку образцов сывороток пациентов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое каждого флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8°С 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8°С 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление образцов

Разведите все образцы сывороток пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Например, смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте.

Контроли и стандарты готовы к использованию и не требуют разведения.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разведенных проб сывороток пациентов в дублях.

2. Добавьте в соответствующие ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и предварительно разведенных образцов в дублях.

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
a	SA	SE	P1	P5		
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P…		
d	SB	SF	P2	P…		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

SA – SF – стандарты A-F
P1, P2, … Образцы пациентов 1,2…
C1 – положительный контроль
C2 – отрицательный контроль

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20-28 °С).

4. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и инкубируйте 5 минут при комнатной температуре.
11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.
Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация: Тест-система ORGENTEC Anti-Cardiolipin IgG/IgM ELISA может быть использована с открытым автоматизированным оборудованием для ELISA. Процедура теста, приведенная выше, применима как для ручного так и для автоматического исполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА
Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм негативного контроля (1), позитивного контроля (2) и калибраторов (A-F) полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах. Также возможно использование логарифмических координат и аппроксимации гладким сплайном.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах
Рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерений в дублях, и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные средние значения ОП стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах.

ПРИМЕР РАСЧЕТА
Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе при определении антител класса IgG к кардиолипину. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Стандарты (C)									
No	Лунка	ОП 1	ОП 2	Среднее	Конц 1 яч.	Конц 2 яч.	Среднее	Заявл. Конц.	CV %
STA	A 1/B 1	0.050	0.050	0.050	0.1	0.1	0.1	0.0	0
STB	C 1/D 1	0.322	0.300	0.311	7.8	7.0	7.4	7.5	7
STC	E 1/F 1	0.520	0.519	0.520	15.2	15.2	15.2	15.0	0
STD	G 1/H 1	0.803	0.824	0.814	29.2	30.5	29.9	30.0	3
STE	A 2/B 2	1.226	1.191	1.209	61.6	58.2	59.9	60.0	3
STF	C 2/D 2	1.640	1.637	1.638	120.5	119.9	120.2	120.0	0

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ
При исследовании диапазона нормальных значений антител к кардиолипину в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

	Антитела к кардиолипину IgG [Ед/мл]	Антитела к кардиолипину IgM [Ед/мл]
нормальный уровень	<10	<7
повышенный уровень	≥10	≥7

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к гистонам.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
Сыворотки с высокой концентрацией IgG- и IgM-антител к кардиолипину были разведены буфером для образцов и проанализированы.

Антитела	Образец	Разведение	**Н**аблюдаемое [Ед/мл]	**О**жидаемое [Ед/мл]	% извлечения
IgG	1	1:200	126.7		
		1:400	63.7	63.4	100 %
		1:800	32.9	31.7	104 %
		1:1600	14.1	15.8	89 %
		1:3200	7.2	7.9	91 %
IgG	2	1:100	112.3		
		1:200	56.1	56.2	100 %
		1:400	25.0	28.1	89 %
		1:800	12.0	14.0	86 %
		1:1600	6.0	7.0	86 %
IgM	3	1:100	55.0		
		1:200	27.0	27.5	98 %
		1:400	13.0	13.8	94 %

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		1:800	6.4	6.9	93 %
IgM	4	1:200	46.5		
		1:400	23.2	23.3	100 %
		1:800	10.9	11.6	94 %
		1:1600	5.2	5.8	90 %
		1:3200	2.8	2.9	97 %

Воспроизводимость
Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Антикардиолипин IgG Внутри серии		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	29.1	5.4
2	62.5	5.8
3	109.4	4.1

Антикардиолипин IgM внутри серии		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	8.4	3.7
2	40.1	4.5
3	58.6	5.3

Антикардиолипин IgG между сериями		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	32.9	3.8
2	70.9	2.5
3	118.3	2.7

Антикардиолипин IgM между сериями		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	10.3	3.4
2	47.0	3.3
3	79.1	2.5

Чувствительность
Нижняя граница определения для антител к кардиолипину класса IgG – 1,0 GPL Ед/мл и IgM – 0,5 MPL Ед/мл.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Микропланшет покрыт очищенным кардиолипином и насыщен человеческим β2-гликопротеином I. Специальный процесс нанесения, разработанный производителем, гарантирует сохранение нативной иммуногенной структуры кардиолипина после иммобидизации на твердой фазе. Данный метод ИФА специфическим выявляет антитела к кардиолипину или комплексам отрицательно заряженных кардиолтпина и β2-гликопротеина I. Не наблюдалось перекрестной реактивности с анти-ДНА антителами и антителами, присутствующими при сифилисе.

КАЛИБРОВКА
Тест-система прокалибрована по международно признанному стандарту сыворотки от E.N.Harris, Louisville, США, и IgG специфичному референсному материалу IRP 97/656 и HCAL/EY2C9.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Тест-система ORGENTEC Anti-Cardiolipin IgG/IgM ELISA может быть использована как часть диагностической процедуры, но сама по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ВЛИЯЮЩИЕ 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.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hughes, G.R.V., Harris, E.N. and Gharavi, A.E. The Anticardiolipin Syndrome. The Journal of Rheumatology 1986; 13, 3: 486 - 489.
2. Domke, N. and Siegert, G. Phospholipidantikörper and ihre klinische Bedeutung. Zeitschrift for Klinische Medizin 1988; Heft 16: 1399 - 1401.
3. Triplett, D.A. Coagulation Assays for the Lupus Anticoagulant: Review and Critique of Current Methodology. Stroke 1992; Vol 23, No 2 [suppl I]: I-11 - I-14.
4. Harris, E.N. Serological Detection of Antiphospholipid Antibodies. Stroke 1992; Vol 23, No 2 [suppl I]: I-3 - I-6.
5. Matsuda, J. et al. Detection of Beta-2-Glycoprotein-I-Dependend Antiphospholipid Antibodies and Anti-Beta-2-Glycoprotein-I Antibody in Patients with Systemic Lupus Erythematosus and in Patients with Syphilis. Int. Arch. Allergy Immunol. 1994; 103: 239 - 244.
6. Kalunian, K.C. et al. Clinical Significante of a Single Test for Anti-Cardiolipin Antibodies in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. The Americam Journal of Medicine 1988; Vol 85: 602 - 608.
7. Khalili, A. and Cooper, R.C. A study of immune responses to Myelin and Cardiolipin in patients with Systemic Lupus Erythematosus (SLE). Clinical and Experimental Immunology 1991; 85: 365 - 372.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Суммарные антитела к кардиолипину (IgG и IgM)

Добавить	Контроли
100 µл контролей в микроячейки	**100 µл** проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут** и Считать при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-Cardiolipin IgA

96 тестов
Кат. № ORG 515A

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и на английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор Anti-Cardiolipin IgA предназначен для количественного определения IgA аутоантител к кардиолипину в сыворотке или плазме человека методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Набор предназначен только для диагностики *in vitro,* и может быть использован при диагностике повышенного риска возникновения тромбоза у пациентов, страдающих системной красной волчанкой (SLE) или другими заболеваниями этой группы.

ВВЕДЕНИЕ

Кардиолипин (дифосфатидилглицерин) относится к группе отрицательно заряженных фосфолипидов. Антитела к этим фосфолипидам часто (но не обязательно) выполняют роль волчаночного антикоагулянта - антител, вызывающих удлинение клоттинговых тестов.

Антитела к кардиолипину обнаруживаются при различных аутоиммунных заболеваниях. Их присутствие у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) ассоциируется с развитием тромбозов и тромбоцитопений, в гинекологии они являются причиной внутриутробной гибели плода или привычного выкидыша. Антикардиолипиновые антитела также обнаруживаются при нетромботических неврологических расстройствах - таких как цереброваскулярная недостаточность, ишемия мозга, хорея и инфаркт миокарда.

Антитела к кардиолипину могут относиться к классам IgG, IgM и IgA. Обнаружение антител класса IgM является индикатором начинающихся аутоиммунных заболеваний, в то время как антитела класса IgG обнаруживаются при обострении и прогрессировании ранее манифестировавших аутоиммунных процессов. Титры антител к кардиолипину класса IgG хорошо коррелируют с клиническим состоянием пациентов с тромбозом, тромбоцитопенией, хроническим невынашиванием беременности и некоторыми неврологическими расстройствами. Антитела к кардиолипину класса IgA часто обнаруживаются совместно с IgG-антителами. Вероятнее всего, что определение IgA-антител является более информативным в отношении развития тромбоза и угрозы выкидыша.

Большинство заболеваний, связанных с антикардиолипиновыми антителами, -это тромбоз глубоких вен и другие тромботические расстройства. Антитела к кардиолипину обнаруживаются в сыворотке примерно у 60% пациентов с СКВ. Наличие этих антител свидетельствует о высоком риске развития тромбоэмболии и тромбоцитопении.

В гинекологии антитела к кардиолипину являются хорошим прогностическим фактором внутриматочной гибели плода или привычного выкидыша. Рекомендуется плановое определение антител к кардиолипину у беременных с СКВ или тромбозом для оценки риска осложнений беременности. Количественное определение антикардиолипиновых антител, особенно IgG, является высокоспецифичным индикатором эффективности проводимой терапии.

Присутствие антикардиолипиновых антител описывается у пациентов с неврологической патологией. Тромбоз церебральных сосудов может вызывать ишемию мозга. Нетромботические патологии ЦНС, например, хорея или эпилепсия, также ассоциируются с наличием антикардиолипиновых антител.

Показано, что антитела к кардиолипину не обнаруживают корреляции с результатами теста VDRL (реакция Вассермана) на сифилис и также не обнаруживают перекрестной реактивности с антителами к ДНК, так как принадлежат к другому типу антител.

Последние исследования обнаружили, что для связывания антител к кардиолипину с антигеном требуется сывороточный кофактор - β_2-гликопротеин I (аполипопротеин H), который представляет собой β_2-глобулин с молекулярной массой 50 кД, присутствующий в плазме в количестве 200 мкг/мл. β_2-гликопротеин I *in vivo* ассоциирован с липопротеинами, отрицательно заряженными фосфолипидами, тромбоцитами и митохондриями. Найдено, что β_2-гликопротеин I ингибирует внутренний путь свертывания и АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов. Таким образом, предполагается участие β_2-гликопротеина I в регуляции свертывания крови.

Наличие β_2-гликопротеина I является необходимым условием связывания антител к кардиолипину с кардиолипином. Антикардиолипиновые антитела распознают как сам кардиолипин, так и его комплекс с β_2-гликопротеином I.

Для ИФА-тестов необходимая концентрация β_2-гликопротеина I создается добавлением очищенного β_2-гликопротеина I в лунки микропланшета, что обеспечивает качество и воспроизводимость получаемых результатов.

Показания для исследования антител к кардиолипину:

- Системная красная волчанка
- Тромбозы
- Тромбоцитопения
- Ишемия мозга
- Хорея
- Эпилепсия
- Внутриматочная гибель плода
- Привычное невынашивание беременности

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокоочищенным бычьим кардиолипином. Антитела к кардиолипину требуют в качестве кофактора β_2-гликопротеин I, поэтому ячейки насыщены высокоочищенным человеческим β_2-гликопротеином I. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела к IgA человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgA антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены только для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2.. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим соляную кислоту (1М). Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN_3) – это вещество, токсичное и активное в чистом виде. Однако концентрации, содержащиеся в поставляемых реагентах, не представляют опасности. Несмотря на то, что они считаются не опасными, производитель рекомендует соблюдать соответствующие предосторожности при работе с реагентами (см. п.п. 8, 9, 10)
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 а в качестве консерванта. При утидизации реагентов, содержащих Proclin 300, промывайте водопроводную систему большим количеством воды, чтобы развети компоненты ниже активных уровней.
8. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенным человеческим кардиолипином и насыщенных высокоочищенным человеческим β_2-гликопротеином I.). Готов к использованию.	1
Комбинированные калибраторы с антителами к кардиолипину классов IgA (A-F) в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN_3 <0,1% (w/w)), содержащие: IgA: 0; 7.5; 15; 30; 60; 120 APL Ед/мл Готовы к использованию.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к кардиолипину классов А в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN_3 <0,1% (w/w)), содержащие позитивный Контроль (1) и негативный Контроль (2), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN_3 <0,1% (w/w)), желтый, концентрат 5х.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (светло-красный) (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие анти-IgA антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), концентрат 50х	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °С
2. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
4. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.
5. Разведенные буфер для промывок и буфер для образцов стабильны при 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный дозатор или диспенсер на 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечения для расчета результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Наносите все образцы на дно лунок
8. Для избежания контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
9. Для достижения наилучших результатов необходима тщательная промывка. После промывки тщательно удалите остатки буфера из лунок.
10. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
11. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.
12. Не используйте повторно стрипы микропланшета.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации можно построить калибровочную кривую и провести полуколичественную оценку образцов сывороток пациентов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое каждого флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8^{o}C 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8^{o}C 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление образцов

Разведите все образцы сывороток пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Например, смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте.

Контроли и стандарты готовы к использованию и не требуют разведения.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разведенных проб сывороток пациентов в дублях.

2. Добавьте в соответствующие ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и предварительно разведенных образцов.

	1	2	3	4	5	6
a	KA	P1	P5			
b	KA	P1	P5			
c	KB	P2	P..			
d	KB	P2	P..			
e	KC	P3				
f	KC	P3				
g	KD	P4				
h	KD	P4				

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20-28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и инкубируйте 5 минут при комнатной температуре.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация: Тест-система ORGENTEC Anti-Cardiolipin IgA ELISA может быть использована с открытым автоматизированным оборудованием для ELISA. Процедура теста, приведенная выше, применима как для ручного так и для автоматического исполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ
КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм негативного контроля (1), позитивного контроля (2) и калибраторов (A-F) полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах. Также возможно использование логарифмических координат и аппроксимации гладким сплайном.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерений в дублях, и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные средние значения ОП стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе при определении антител класса IgA к кардиолипину. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Стандарты (C)									
No	Лунка	ОП 1	ОП 2	Среднее	Конц 1 яч.	Конц 2 яч.	Среднее	Заявл. Конц.	CV %
STA	A 1/B 1	0.050	0.050	0.050	0.1	0.1	0.1	0.0	0
STB	C 1/D 1	0.322	0.300	0.311	7.8	7.0	7.4	7.5	7
STC	E 1/F 1	0.520	0.519	0.520	15.2	15.2	15.2	15.0	0
STD	G 1/H 1	0.803	0.824	0.814	29.2	30.5	29.9	30.0	3
STE	A 2/B 2	1.226	1.191	1.209	61.6	58.2	59.9	60.0	3
STF	C 2/D 2	1.640	1.637	1.638	120.5	119.9	120.2	120.0	0

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании диапазона нормальных значений антител к кардиолипину в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

	Антитела к кардиолипину IgA [Ед/мл]
нормальный уровень	<10
повышенный уровень	>10

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к гистонам.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

Сыворотки с высокой концентрацией IgA-антител к кардиолипину были разведены буфером для образцов и проанализированы.

Антитела	Образец	Разведение	**Н**аблюдаемое [Ед/мл]	**О**жидаемое [Ед/мл]	% извлечения
IgA	1	1:200	120.2		
		1:400	59.9	60.1	100 %
		1:800	28.7	30.1	95 %
		1:1600	14.4	15.0	96 %
		1:3200	7.3	7.5	97 %
IgA	2	1:100	112.3		
		1:200	55.7	56.2	99 %
		1:400	26.1	28.1	93 %
		1:800	12.6	14.0	90 %
		1:1600	6.2	7.0	89 %

Воспроизводимость

Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Антикардиолипин IgA		
Внутри серии		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	11.9	5.9
2	40.0	4.0
3	82.7	4.1

Антикардиолипин IgA		
внутри серии		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	9.7	3.3
2	37.6	3.9
3	97.9	3.3

Чувствительность

Нижняя граница определения для антител к кардиолипину класса IgA – 1,0 APL Ед/мл.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Микропланшет покрыт очищенным кардиолипином и насыщен человеческим β2-гликопротеином I. Специальный процесс нанесения, разработанный производителем, гарантирует сохранение нативной иммуногенной структуры кардиолипина после иммобидизации на твердой фазе. Данный метод ИФА специфическим выявляет антитела к кардиолипину или комплексам отрицательно заряженных кардиолтпина и β2-гликопротеина I. Не наблюдалось перекрестной реактивности с анти-ДНА антителами и антителами, присутствующими при сифилисе.

КАЛИБРОВКА

Тест-система прокалибрована по международно признанному стандарту сыворотки от E.N.Harris, Louisville, США, поскольку не существует другого международного стандарта.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Тест-система ORGENTEC Anti-Cardiolipin IgA ELISA может быть использована как часть диагностической процедуры, но сама по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ВЛИЯЮЩИЕ 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.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hughes, G.R.V., Harris, E.N. and Gharavi, A.E. The Anticardiolipin Syndrome. The Journal of Rheumatology 1986; 13, 3: 486 - 489.
2. Domke, N. and Siegert, G. Phospholipidantikörper and ihre klinische Bedeutung. Zeitschrift for Klinische Medizin 1988; Heft 16: 1399 - 1401.
3. Triplett, D.A. Coagulation Assays for the Lupus Anticoagulant: Review and Critique of Current Methodology. Stroke 1992; Vol 23, No 2 [suppl I]: I-11 - I-14.
4. Harris, E.N. Serological Detection of Antiphospholipid Antibodies. Stroke 1992; Vol 23, No 2 [suppl I]: I-3 - I-6.
5. Matsuda, J. et al. Detection of Beta-2-Glycoprotein-I-Dependend Antiphospholipid Antibodies and Anti-Beta-2-Glycoprotein-I Antibody in Patients with Systemic Lupus Erythematosus and in Patients with Syphilis. Int. Arch. Allergy Immunol. 1994; 103: 239 - 244.
6. Kalunian, K.C. et al. Clinical Significante of a Single Test for Anti-Cardiolipin Antibodies in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. The Americam Journal of Medicine 1988; Vol 85: 602 - 608.
7. Khalili, A. and Cooper, R.C. A study of immune responses to Myelin and Cardiolipin in patients with Systemic Lupus Erythematosus (SLE). Clinical and Experimental Immunology 1991; 85: 365 - 372.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Суммарные антитела к кардиолипину (IgA)

Добавить	Контроли
100 µл контролей в микроячейки	**100 µл** проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут** и Считать при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-Cardiolipin Screen

96 тестов
Кат. № ORG 515S

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и на английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор Anti-Cardiolipin Screen предназначен для количественного определения IgG, IgM и IgA аутоантител к кардиолипину в сыворотке или плазме человека методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Набор предназначен только для диагностики *in vitro,* и может быть использован при диагностике повышенного риска возникновения тромбоза у пациентов, страдающих системной красной волчанкой (SLE) или другими заболеваниями этой группы.

ВВЕДЕНИЕ

Кардиолипин (дифосфатидилглицерин) относится к группе отрицательно заряженных фосфолипидов. Антитела к этим фосфолипидам часто (но не обязательно) выполняют роль волчаночного антикоагулянта - антител, вызывающих удлинение клоттинговых тестов.

Антитела к кардиолипину обнаруживаются при различных аутоиммунных заболеваниях. Их присутствие у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) ассоциируется с развитием тромбозов и тромбоцитопений, в гинекологии они являются причиной внутриутробной гибели плода или привычного выкидыша. Антикардиолипиновые антитела также обнаруживаются при нетромботических неврологических расстройствах - таких как цереброваскулярная недостаточность, ишемия мозга, хорея и инфаркт миокарда.

Антитела к кардиолипину могут относиться к классам IgG, IgM и IgA. Обнаружение антител класса IgM является индикатором начинающихся аутоиммунных заболеваний, в то время как антитела класса IgG обнаруживаются при обострении и прогрессировании ранее манифестировавших аутоиммунных процессов. Титры антител к кардиолипину класса IgG хорошо коррелируют с клиническим состоянием пациентов с тромбозом, тромбоцитопенией, хроническим невынашиванием беременности и некоторыми неврологическими расстройствами. Антитела к кардиолипину класса IgA часто обнаруживаются совместно с IgG-антителами. Вероятнее всего, что определение IgA-антител является более информативным в отношении развития тромбоза и угрозы выкидыша.

Большинство заболеваний, связанных с антикардиолипиновыми антителами, -это тромбоз глубоких вен и другие тромботические расстройства. Антитела к кардиолипину обнаруживаются в сыворотке примерно у 60% пациентов с СКВ. Наличие этих антител свидетельствует о высоком риске развития тромбоэмболии и тромбоцитопении.

В гинекологии антитела к кардиолипину являются хорошим прогностическим фактором внутриматочной гибели плода или привычного выкидыша. Рекомендуется плановое определение антител к кардиолипину у беременных с СКВ или тромбозом для оценки риска осложнений беременности. Количественное определение антикардиолипиновых антител, особенно IgG, является высокоспецифичным индикатором эффективности проводимой терапии.

Присутствие антикардиолипиновых антител описывается у пациентов с неврологической патологией. Тромбоз церебральных сосудов может вызывать ишемию мозга. Нетромботические патологии ЦНС, например, хорея или эпилепсия, также ассоциируются с наличием антикардиолипиновых антител.

Показано, что антитела к кардиолипину не обнаруживают корреляции с результатами теста VDRL (реакция Вассермана) на сифилис и также не обнаруживают перекрестной реактивности с антителами к ДНК, так как принадлежат к другому типу антител.

Последние исследования обнаружили, что для связывания антител к кардиолипину с антигеном требуется сывороточный кофактор - β_2-гликопротеин I (аполипопротеин H), который представляет собой β_2-глобулин с молекулярной массой 50 кД, присутствующий в плазме в количестве 200 мкг/мл. β_2-гликопротеин I *in vivo* ассоциирован с липопротеинами, отрицательно заряженными фосфолипидами, тромбоцитами и митохондриями. Найдено, что β_2-гликопротеин I ингибирует внутренний путь свертывания и АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов. Таким образом, предполагается участие β_2-гликопротеина I в регуляции свертывания крови.

Наличие β_2-гликопротеина I является необходимым условием связывания антител к кардиолипину с кардиолипином. Антикардиолипиновые антитела распознают как сам кардиолипин, так и его комплекс с β_2-гликопротеином I.

Для ИФА-тестов необходимая концентрация β_2-гликопротеина I создается добавлением очищенного β_2-гликопротеина I в лунки микропланшета, что обеспечивает качество и воспроизводимость получаемых результатов.

Показания для исследования антител к кардиолипину:

- Системная красная волчанка
- Тромбозы
- Тромбоцитопения
- Ишемия мозга
- Хорея
- Эпилепсия
- Внутриматочная гибель плода
- Привычное невынашивание беременности

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокоочищенным бычьим кардиолипином. Антитела к кардиолипину требуют в качестве кофактора β_2-гликопротеин I, поэтому ячейки насыщены высокоочищенным человеческим β_2-гликопротеином I. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела к IgG, IgM и IgA человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG, IgM и IgA антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены только для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2.. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN_3) – это вещество, токсичное и активное в чистом виде. Однако концентрации, содержащиеся в поставляемых реагентах, не представляют опасности. Несмотря на то, что они считаются не опасными, производитель рекомендует соблюдать соответствующие предосторожности при работе с реагентами (см. п.п. 8, 9, 10)
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 а в качестве консерванта. При утидизации реагентов, содержащих Proclin 300, промывайте водопроводную систему большим количеством воды, чтобы развети компоненты ниже активных уровней.
8. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенным человеческим кардиолипином и насыщенных высокоочищенным человеческим β_2-гликопротеином I.). Готов к использованию.	1
Контроли антител к кардиолипину классов G, M, A в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN_3 <0,1% (w/w)), содержащие Негативный Контроль (A) 3.3 Е/мл Cut-Off Контроль (B) 10 Е/мл Позитивный Контроль (C), 30 Е/мл Сильно Позитивный Контроль (D), 90 Е/мл. Готовы к использованию.	4 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN_3 <0,1% (w/w)), желтый, концентрат 5х.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (светло-красный) (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), содержащий смесь поликлональных кроличьих античеловеческих анти-IgG-IgG, анти-IgM-IgG, анти-IgA-IgG антител, меченых пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), концентрат 50х	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C
2. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
4. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.
5. Разведенные буфер для промывок и буфер для образцов стабильны при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный дозатор или диспенсер на 100 мкл

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечения для расчета результатов

Приготовление реагентов
- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Наносите все образцы на дно лунок
8. Для избежания контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
9. Для достижения наилучших результатов необходима тщательная промывка. После промывки тщательно удалите остатки буфера из лунок.
10. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
11. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.
12. Не используйте повторно стрипы микропланшета.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации можно построить калибровочную кривую и провести полуколичественную оценку образцов сывороток пациентов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое каждого флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8^{o}C 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8^{o}C 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление образцов

Разведите все образцы сывороток пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Например, смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте.

Контроли и стандарты готовы к использованию и не требуют разведения.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разведенных проб сывороток пациентов в дублях.

2. Добавьте в соответствующие ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и предварительно разведенных образцов.

	1	2	3	4	5	6
a	KA	P1	P5			
b	KA	P1	P5			
c	KB	P2	P..			
d	KB	P2	P..			
e	KC	P3				
f	KC	P3				
g	KD	P4				
h	KD	P4				

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20-28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и инкубируйте 5 минут при комнатной температуре.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация: Тест-система ORGENTEC Anti-Histone ELISA может быть использована с открытым автоматизированным оборудованием для ELISA.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Процедура теста, приведенная выше, применима как для ручного так и для автоматического исполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм негативного контроля (A) Cut-Off контроля (B), позитивного контроля (C) и сильно позитивного контроля (D) полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется непосредственное сравнение оптической плотности образца каждого пациента с оптической плотностью контролей. Образцы с оптической плотностью выше, чем оптическая плотность контроля cut-off, считаются положительными.

Отрицательный: ОП пациента < ОП cut-off контроля

Положительный: ОП пациента > ОП cut-off контроля

Сильноположительный: ОП пациента ≥ ОП сильноположительного контроля

Для полуколичественного расчета результатов теста могут быть использованы концентрации и результаты измерения ОП контролей, которые используются для построения калибровочной кривой (рекомендуемая кривая - 4-параметрическая в полулогарифмических координатах). Концентрации неизвестных образцов рассчитываются по калибровочной кривой.

При положительном результате в скрининговом тесте дальнейшее типирование аутоантител к кардиолипину должно проводиться с использованием наборов для количественного определения антител классов IgG, IgM и IgA.

Данный набор определяет сумму аутоантител всех трех классов (IgG, IgM и IgA). Образцы пациентов, содержащие 2 или 3 класса аутоантител к кардиолипину в низких концентрациях могут быть положительными в данном скрининговом тесте благодаря суммирующему эффекту. Такие образцы могут оказаться отрицательными при исследовании на отдельные классы аутоантител (IgG, IgM и IgA).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании диапазона нормальных значений антител к кардиолипину в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

Антитела к кардиолипину

Cut-Off: 10 Ед/мл

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к кардиолиину.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

Сыворотки содержащие антитела к кардиолипину классов IgG, IgM и IgA были разведены буфером для образцов и проанализированы с использованием данного набора.

Антитела	Обра-зец	Разве-дение	**Н**аблю-даемое [Ед/мл]	**О**жида-емое [Ед/мл]	**Н/О**
Скрининг	1	1:200	47.7		
		1:400	24.0	23.9	100%
		1:800	11.5	11.9	97%
		1:1600	6.0	6.0	100%
		1:3200	2.7	3.0	90%
Скрининг	2	1:100	138.0		
		1:200	69.7	69.0	101%
		1:400	33.5	34.5	97%
		1:800	15.9	17.3	92%
		1:1600	7.8	8.6	91%
		1:3200	4.1	4.3	95%

Воспроизводимость

Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из четырех образцов в 22 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	4.4	13.3
2	14.8	5.2
3	42.1	4.1
4	70.2	6.6

между сериями		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	5.8	12.4
2	15.8	8.1
3	43.7	4.7
4	75.9	2.5

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Микропланшет покрыт очищенным кардиолипином и насыщен человеческим β2-гликопротеином I. Специальный процесс нанесения, разработанный производителем, гарантирует сохранение нативной иммуногенной структуры кардиолипина после иммобидизации на твердой фазе. Данный метод ИФА специфическим выявляет антитела к кардиолипину или комплексам отрицательно заряженных кардиолтпина и β2-гликопротеина I. Не наблюдалось перекрестной реактивности с анти-ДНА антителами и антителами, присутствующими при сифилисе.

КАЛИБРОВКА

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Тест-система прокалибрована по международно признанному стандарту сыворотки от E.N.Harris, Louisville, США, и IgG специфичный референсному материалу IRP 97/656 и HCAL/EY2C9.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Тест-система ORGENTEC Anti-Histone ELISA может быть использована как часть диагностической процедуры, но сама по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ВЛИЯЮЩИЕ 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.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hughes, G.R.V., Harris, E.N. and Gharavi, A.E. The Anticardiolipin Syndrome. The Journal of Rheumatology 1986; 13, 3: 486 - 489.
2. Domke, N. and Siegert, G. Phospholipidantikörper and ihre klinische Bedeutung. Zeitschrift for Klinische Medizin 1988; Heft 16: 1399 - 1401.
3. Triplett, D.A. Coagulation Assays for the Lupus Anticoagulant: Review and Critique of Current Methodology. Stroke 1992; Vol 23, No 2 [suppl I]: I-11 - I-14.
4. Harris, E.N. Serological Detection of Antiphospholipid Antibodies. Stroke 1992; Vol 23, No 2 [suppl I]: I-3 - I-6.
5. Matsuda, J. et al. Detection of Beta-2-Glycoprotein-I-Dependend Antiphospholipid Antibodies and Anti-Beta-2-Glycoprotein-I Antibody in Patients with Systemic Lupus Erythematosus and in Patients with Syphilis. Int. Arch. Allergy Immunol. 1994; 103: 239 - 244.
6. Kalunian, K.C. et al. Clinical Significante of a Single Test for Anti-Cardiolipin Antibodies in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. The Americam Journal of Medicine 1988; Vol 85: 602 - 608.
7. Khalili, A. and Cooper, R.C. A study of immune responses to Myelin and Cardiolipin in patients with Systemic Lupus Erythematosus (SLE). Clinical and Experimental Immunology 1991; 85: 365 - 372.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Суммарные антитела к кардиолипину (IgG+IgM+IgA)

Добавить	Контроли
100 µл контролей в микроячейки	**100 µл** проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут** и Считать при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-beta-2-Glycoprotein I IgG/ IgM

Кат. Номер ORG 521

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и на английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для количественного определения антител классов IgG/IgM к β2-гликопротеину I (β2GPI) методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) в сыворотке и плазме человека. Метод предназначен только для диагностики *in vitro* и должен использоваться только в целях выявления повышенного риска развития тромбоза у пациентов с системной красной волчанкой (SLE) или с подобными заболеваниями.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Выявление антител к β2-гликопротеину I ассоциировано с такими связанными с антифосфолипидным синдромом заболеваниями, как тромбоз, тромбоцитопения или невынашивание в связи с системной красной волчанкой. β2-гликопротеин I (аполипопротеин H) – это β2-глобулин с молекулярной массой 50 кДа, присутствующий в плазме в концентрации около 200 мкг/мл. Было показано, что β2-гликопротеин I (β2GPI) ингибирует коагуляцию и, таким образом, он вовлечен в регуляцию свертывания крови. β2GPI *in vivo* связан с каким-либо отрицательно заряженным соединением, например, фосфолипидами, гепарином или липопротеинами. Место связывания с фосфолипидами расположено в пятом домене. Не так давно обнаружили, что β2-гликопротеин I является ко-фактором для аутоантител к кардиолипину. Многие исследования подтвердили его незаменимую роль в характерном связывании антител к кардиолипину с иммобилизованным кардиолипином.

Детальные исследования, касающиеся природы комплекса кардиолипин/β2GPI показали, что эпитопы пятого домена β2GPI являются мишенью для «анти-кардиолипиновых антител» в отсутствии отрицательно заряженных фосфолипидов. β2GPI является не только необходимым условием связывания анти-кардиолипиновых антител;
было показано, что он также является и первичным антигеном для своих собственных аутоантител. Образцы сывороток пациентов, страдающих антифосфолипидным синдромом, были протестированы как на антитела к кардиолипину, так и на антитела к β2GPI . Выявленная хорошая корреляция между этими двумя типами антител подтверждает все вышесказанное. Наличие аутоантител к β2- гликопротеину I описано при различных аутоиммунных заболеваниях. Присутствие анти-β2GPI антител может быть соотнесено с развитием артериального и венозного тромбозов, венозной тромбоэмболии, тромбоцитопении или синдрома невынашивания. Существуют анти-β2-гликопротеин I антитела классов IgG-, IgM- и IgA. Антитела класса IgM являются значимым индикатором при диагностике начальных стадий аутоиммунных заболеваний, тогда как антитела класса IgG выявляются на более поздних стадиях, при выраженных аутоиммунных заболеваниях. Титр анти-β2GPI антител класса IgG хорошо коррелирует с клинической картиной наблюдаемого у пациента тромбоза, тромбоэмболии и повторных выкидышей, тогда как анти-β2GPI антитела класса IgM в значительной степени связаны с тромбозами и тромбоцитопенией. Показаниями к определению анти-β2-гликопротеина I антител являются:

- СКВ
- артериальный и венозный тромбозы
- венозная тромбоэмболия
- тромбоцитопения
- невынашивание

ПРИНЦИП МЕТОДА

Настоящий набор использует принцип непрямого твердофазного ИФА - ELISA. Он предназначен для количественного определения антител классов IgG/IgM к β2-гликопротеину I. Анализ проводится в микропланшете, покрытом особо чистым препаратом β2-гликопротеина I. Присутствующие в образцах антитела связываются с иммобилизованными в микроячейках антигеном. При промывке удаляют не связавшиеся компоненты сыворотки. Конъюгат антител к IgG и IgM человека с пероксидазой хрена добавляется в ячейки и иммунологически связывается с аутоантителами из сывороток пациентов, связанных с иммобилизованными антигенами, в результате чего образуется комплекс конъюгат/антитело/антиген. Избыток ферментного конъюгата удаляется при следующей промывке. Раствор хромогенного субстрата в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением 1М соляной кислоты в качестве стоп-раствора, при этом Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого окрашивания определяют фотометрически при 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG/IgM в образце.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. 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 мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Стоп-раствор содержит соляную кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. Он способен образовывать взрывоопасные соединения при длительном контакте с медью или свинцом. При использовании реагентов, содержащих азид натрия необходимо наличие большого количества воды. Азид натрия может быть токсичен при попадании внутрь организма. В концентрациях, присутствующих в реагентах, он не токсичен. Несмотря на классификацию как не токсичного вещества, мы настоятельно рекомендуем следовать обычной лабораторной практике обращения с опасными веществами (см. 8., 9., 10).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При выливании реагентов, содержащих Proclin 300, необходимо смывать большим количеством воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
8. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9. Не отбирайте образцы ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

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.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых особо чистым препаратом β2-гликопротеина I	1
Комбинированные стандарты с антителами к β2-гликопротеину I классов IgG и IgM (A-F) в сывороточно/буферном (PBS/BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе, содержащие IgG: 0; 6.3; 12.5; 25; 50 и 100 Ед/мл и IgM: 0; 6.3; 12.5; 25; 50; 100 Ед/мл. Готовы к использованию	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к β2-гликопротеину I классов IgG и IgM в сывороточно-буферном (PBS/BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе, положительный (1) и отрицательный (2), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат 5***x	1 флакон 20 мл
Раствор (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи IgG антитела против IgG человека, меченые пероксидазой хрена. Готовы к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи IgG антитела против IgM человека, меченые пероксидазой хрена. Готовы к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готовы к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат 50***x	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C в их оригинальной упаковке
2. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
4. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.
5. Разведенные буфер для промывок и буфер для образцов стабильны при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Вортекс
- Многоканальные пипетки или дозаторы на 100 мкл
- Пипетки на 10, 100 и 1000 μл
- Лабораторный таймер
- программное обеспечение для анализа данных

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Наносите все образцы на дно лунок
8. Для избежания переходящей контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
9. Для достижения наилучших результатов необходима тщательная промывка. После промывки тщательно удалите остатки буфера из лунок.
10. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
11. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.
12. Не используйте повторно стрипы микропланшета.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. С использованием этих концентраций может быть построена калибровочная кривая и проведена полуколичественная оценка образцов сывороток пациентов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление образцов

Разбавьте все образцы сывороток пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте.
Контроли и стандарты готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A	P1	A	P1								
B	B	P2	B	P2								
C	C	P3	C	P3								
D	D	P4	D	P4								
E	E	P5	E	P5								
F	F	P6	F	P6								
G	C+	P7	C+	P7								
H	C-	P8	C-	P8								
	IgG	IgG	IgM	IgM								

P1, ... Проба
A-F Калибраторы
C+, C- Контроли

3. Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре (20-28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация: Тест-система ORGENTEC анти-β2-гликопротеин I IgG/IgM ELISA может быть использована с открытым автоматизированным оборудованием для ELISA. Процедура теста, приведенная выше, применима как для ручного так и для автоматического исполнения.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1) Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и F полностью совпадают 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах. Также возможно использование логарифмических координат и аппроксимации сплайнами.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерения в дублях, и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов.

Пример расчета результатов

Данные, приведенные ниже, показывают типичные результаты, полученные с помощью данного метода ORGENTEC Rheumatoid Factor IgA ELISA. Эти данные предназначены только для иллюстрации и не должны быть использованы для расчета результатов какой-либо постановки.

стандарты									
No.	лунка	ОП 1	ОП 2	Сред-нее	конц. 1	конц. 2	Сред-нее	Заявленная конц.	CV %
STA	A 1/B 1	0,124	0,122	0,123	0,001	0,001	0,001	0,001	1
STB	C 1/D 1	0,281	0,282	0,281	5,4	5,4	5,4	6,3	0
STC	E 1/F 1	0,579	0,578	0,579	12,9	12,9	12,9	12,5	0
STD	G1/H 1	0,990	0,995	0,993	25,2	25,4	25,3	25,0	1
STE	A 2/B 2	1,463	1,488	1,476	50,5	48,6	49,5	50,0	1
STF	C 2/D 2	1,862	1,865	1,863	100,4	99,7	100,1	100,0	0

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании нормального диапазона значений анти-β2-гликопротеин I антител в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

анти-β2-гликопротеин I –Ab:	IgG [Ед/мл]	IgM [Ед/мл]
норма:	< 5	< 5
пограничная зона :	5 - 8	5 - 8
повышенные значения:	> 8	> 8

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к гистонам.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

Сыворотки с высокой концентрацией анти-β2-гликопротеин I антител были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом.

Sample	Dilution	Observed U/ml	Expected U/ml	O/E [%]
IgG 1	1:100	100.0	100.0	100
	1:200	49.8	50.0	100
	1:400	25.5	25.0	102
	1:800	13.1	12.5	105
	1:1600	6.9	6.3	110
IgG 2	1:100	80.9	80.9	100
	1:200	42.0	40.5	104
	1:400	21.1	20.2	104
	1:800	10.7	10.1	106
	1:1600	5.6	5.1	110
IgM 1	1:100	97.6	97.6	100
	1:200	49.0	48.8	100
	1:400	23.2	24.4	95
	1:800	13.4	12.2	110
	1:1600	6.4	6.1	105
IgM 2	1:100	70.3	70.3	100
	1:200	33.5	35.2	95
	1:400	18.6	17.6	106
	1:800	10.1	8.8	115
	1:1600	4.9	4.4	111

Воспроизводимость

Статистика для коэффициентов вариации (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии, воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Intra-Assay IgG		
Sample	Mean U/ml	CV %
1	8.1	3.3
2	17.8	3.1
3	40.2	3.7

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Inter-Assay IgG		
Sample	Mean U/ml	CV %
1	8.3	6.0
2	17.7	3.4
3	40 .1	4 .0

Intra-Assay IgM		
Sample	Mean U/ml	CV %
1	11.5	1.8
2	30.8	2.3
3	66.3	3.1

Inter-Assay IgM		
Sample	Mean U/ml	CV %
1	11.4	3.0
2	30.7	4.4
3	66.9	2.5

Чувствительность
Нижняя граница определения для анти-β2-гликопротеин I антител составляет 0.5 Ед/мл.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Микропланшет покрыт особо чистым препаратом β2-гликопротеина I. Тест специфичен только по отношению к аутоантителам к β2-гликопротеину I.
Эндогенный β2-гликопротеин I и эндогенные отрицательно заряженные фосфолипиды присутствуют в разведенной (1:100) сыворотке в концентрациях приблизительно 2 мкг/мл и приблизительно 1 мкг/мл, соответственно. Влияния на определение анти-β2-гликопротеин I антител не выявлено.

КАЛИБРОВКА
Поскольку не существует международно признанного стандарта аутоантител к к β2-гликопротеину I, тест-система прокалибрована в относительных единицах. Тест-система прокалибрована по международно признанному стандарту сыворотки от E.N.Harris, Louisville, США, и IgG специфичному референсному материалу IRP 97/656 и HCAL/EY2C9.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Анти β2-гликопротеин I IgG/IgM ELISA может быть использован в диагностических целях, но сам по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

Study population	n	Pos IgG	%	Pos IgM	%
Primary APS	8	6	75.0	4	50.0
Secondary APS	65	56	86.2	27	41.5
Normal human sera	150	2	1.3	3	2.0

		Clinical Diagnosis POS	NEG	
ORG 521	POS	62	2	
IgG	NEG	11	148	
		73	150	223
Sensitivity:	84.9 %			
Specificity:	98.7 %			
Overall agreement:	94.2 %			

		Clinical Diagnosis Pos	Neg	
ORG 521	Pos	31	3	
IgM	Neg	42	147	
		73	150	223
Sensitivity:	42.5 %			
Specificity:	98.0 %			
Overall agreement:	79.8 %			

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ
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.

ЛИТЕРАТУРА

1. Roubey, R.A.S. Review Article: Autoantibodies to phospholipid-binding plasma proteins: a new view of Lupus Anticoagulants and other "antiphospholipid" autoantibodies. Blood 1994; Vol 84, No 9: 2854 - 2867.
2. Schousboe, I. b2-Glycoprotein I: a plasma inhibitor of the contact activation of the intrinsic blood coagulation pathway. Blood 1985; Vol 66, No 5: 1086 - 1091.
3. Lee, N.S. et al. b2-Glycoprotein I - Molecular properties of an unusual apolipoprotein, Apolipoprotein H. J. Biol. Chem. 1983; Vol 258, No 8: 4765 - 4770.
4. Kandiah, D.A. et al. Epitope mapping studies of antiphospholipid antibodies and b2GPI using synthetic peptides. Lupus 1995; Vol 4, Suppl 1: S7 - S11.
5. Matsuura, E. et al. Molecular studies on phospholipid-binding sites and cryptic epitopes appearing on b2-glycoprotein I structure recognized by anti-cardiolipin antibodies. Lupus 1995; Vol 4, Suppl 1: S13 –S17
6. Koike, T. Anticardiolipin Antibodies and b2-Glycoprotein I. Clinical Immunology and Immunopathology 1994; Vol 72, No 2: 187 - 192.
7. Roubey, R.A.S. et al. "Anticardiolipin" autoantibodies recognise b2-Glycoprotein I in the absence of phospholipid. J. Immunol., 1995; Vol 154: 954 - 960.
8. Wang, M.-X. et al. Epitope specificity of monoclonal anti-b2-Glycoprotein I antibodies derived from patients with the antiphospholipid syndrome. J. Immunol., 1995; Vol 155: 1629 - 1636.
9. Arvieux, J. et al. IgG2 subclass restriction of anti-b2-Glycoprotein I antibodies in autoimmune patients. Clin. Exp. Immunol. 1994; Vol 95: 310 - 315.
10. Matsuda, J. et al. Prevalence of b2-glycoprotein I antibody in systemic lupus erythematosus patients with b2-glycoprotein I dependent antiphospholipid antibodies. Ann. Rheum. Dis. 1995; Vol 54: 73 - 75.
11. Martinuzzo, M.E. et al. Anti b2 glycoprotein I antibodies: detection and association with thrombosis. Brit. J. Haematol. 1995; Vol 89: 397 - 402.
12. Balestrieri, G. et al. Anti-beta2-glycoprotein I antibodies: a marker of antiphospholipid syndrome ? Lupus 1995; Vol 4: 122 - 130

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
Антитела к гистонам

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

→ Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

→ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

→ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

→ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ

→ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

→ Выдержите **5 минут**

→ Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-beta-2-Glycoprotein I IgA

Кат. Номер ORG 521A

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и на английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для количественного определения антител класса IgA к β2-Glycoprotein I методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) в сыворотке и плазме человека. Метод предназначен только для диагностики in vitro и должен использоваться только в целях выявления повышенного риска развития тромбоза у пациентов с системной красной волчанкой (SLE) или с волчанкоподобными заболеваниями.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Выявление антител к β2-гликопротеину I ассоциировано с такими связанными с антифосфолипидным синдромом заболеваниями, как тромбоз, тромбоцитопения или невынашивание в связи с системной красной волчанкой. β2-гликопротеин I (аполипопротеин H) – это β2-глобулин с молекулярной массой 50 кДа, присутствующий в плазме в концентрации около 200 мкг/мл. Было показано, что β2-гликопротеин I (β2GPI) ингибирует коагуляцию и, таким образом, он вовлечен в регуляцию свертывания крови. β2GPI *in vivo* связан с каким-либо отрицательно заряженным соединением, например, фосфолипидами, гепарином или липопротеинами. Место связывания с фосфолипидами расположено в пятом домене. Не так давно обнаружили, что β2-гликопротеин I является ко-фактором для аутоантител к кардиолипину. Многие исследования подтвердили его незаменимую роль в характерном связывании антител к кардиолипину с иммобилизованным кардиолипином. Детальные исследования, касающиеся природы комплекса кардиолипин/β2GPI показали, что эпитопы пятого домена β2GPI являются мишенью для «анти-кардиолипиновых антител» в отсутствии отрицательно заряженных фосфолипидов. β2GPI является не только необходимым условием связывания анти-кардиолипиновых антител; было показано, что он также является и первичным антигеном для своих собственных аутоантител. Образцы сывороток пациентов, страдающих антифосфолипидным синдромом, были протестированы как на антитела к кардиолипину, так и на антитела к β2GPI . Выявленная хорошая корреляция между этими двумя типами антител подтверждает все вышесказанное. Наличие аутоантител к β2- гликопротеину I описано при различных аутоиммунных заболеваниях. Присутствие анти-β2GPI антител может быть соотнесено с развитием артериального и венозного тромбозов, венозной тромбоэмболии, тромбоцитопении или синдрома невынашивания. Существуют анти-β2-гликопротеин I антитела классов IgG-, IgM- и IgA. Антитела класса IgM являются значимым индикатором при диагностике начальных стадий аутоиммунных заболеваний, тогда как антитела класса IgG выявляются на более поздних стадиях, при выраженных аутоиммунных заболеваниях. Титр анти-β2GPI антител класса IgG хорошо коррелирует с клинической картиной наблюдаемого у пациента тромбоза, тромбоэмболии и повторных выкидышей, тогда как анти-β2GPI антитела класса IgM в значительной степени связаны с тромбозами и тромбоцитопенией. Показаниями к определению анти-β2-гликопротеина I антител являются:

- СКВ
- артериальный и венозный тромбозы
- венозная тромбоэмболия
- тромбоцитопения
- невынашивание

ПРИНЦИП МЕТОДА

Настоящий набор использует принцип непрямого твердофазного ИФА - ELISA. Он предназначен для количественного определения антител классов IgA к β2-гликопротеину I. Анализ проводится в микропланшете, покрытом особо чистым препаратом β2-гликопротеина I. Присутствующие в образцах антитела связываются с иммобилизованными в микроячейках антигеном. При промывке удаляют не связавшиеся компоненты сыворотки. Конъюгат антител к IgA человека с пероксидазой хрена добавляется в ячейки и иммунологически связывается с аутоантителами из сывороток пациентов, связанных с иммобилизованными антигенами, в результате чего образуется комплекс конъюгат/антитело/антиген. Избыток ферментного конъюгата удаляется при следующей промывке. Раствор хромогенного субстрата в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением 1М соляной кислоты в качестве стоп-раствора, при этом Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого окрашивания определяют фотометрически при 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgA в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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 мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Стоп-раствор содержит соляную кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. Он способен образовывать взрывоопасные соединения при длительном контакте с медью или свинцом. При использовании реагентов, содержащих азид натрия необходимо наличие большого количества воды. Азид натрия может быть токсичен при попадании внутрь организма. В концентрациях, присутствующих в реагентах, он не токсичен. Несмотря на классификацию как не токсичного вещества, мы настоятельно рекомендуем следовать обычной лабораторной практике обращения с опасными веществами (см. 8., 9., 10).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При выливании реагентов, содержащих Proclin 300, необходимо смывать большим количеством воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
8. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9. Не отбирайте образцы ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.
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.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых особо чистым препаратом β2-гликопротеина I	1
Комбинированные стандарты с антителами к β2-гликопротеину I класса IgA (A-F) в сывороточно/буферном (PBS/BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе, содержащие IgA: 0; 6.3; 12.5; 25; 50 и 100 Ед/мл Готовы к использованию	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к β2-гликопротеину I в сывороточно-буферном (PBS/BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе, положительный (1) и отрицательный (2), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат 5***x	1 флакон 20 мл
Раствор (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG-IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готовы к использованию.	15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готовы к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат 50***x	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C в их оригинальной упаковке
2. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
4. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.
5. Разведенные буфер для промывок и буфер для образцов стабильны при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Вортекс
- Многоканальные пипетки или дозаторы на 100 мкл
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Лабораторный таймер
- программное обеспечение для анализа данных

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза. 2. отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ. 4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C. 5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности. 6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Наносите все образцы на дно лунок
8. Для избежания переходящей контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
9. Для достижения наилучших результатов необходима тщательная промывка. После промывки тщательно удалите остатки буфера из лунок.
10. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
11. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.
12. Не используйте повторно стрипы микропланшета.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. С использованием этих концентраций может быть построена калибровочная кривая и проведена полуколичественная оценка образцов сывороток пациентов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление образцов

Разбавьте все образцы сывороток пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте.

Контроли и стандарты готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

3. Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре (20-28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация: Тест-система ORGENTEC анти-β2-гликопротеин I IgA ELISA может быть использована с открытым автоматизированным оборудованием для ELISA. Процедура теста, приведенная выше, применима как для ручного так и для автоматического исполнения.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1) Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и F полностью совпадают 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах. Также возможно использование логарифмических координат и аппроксимации сплайнами.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерения в дублях, и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании нормального диапазона значений анти-β2-гликопротеин I антител в сыворотках здоровых доноров получены следующие значения:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

анти-β2-гликопротеин I –Ab: IgA [Ед/мл]
норма: < 5
пограничная зона : 5 - 8
повышенные значения: > 8
Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, решение о терапии должно приниматься индивидуально.
Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии антител к гистонам.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
Сыворотки с высокой концентрацией IgA анти-β2-гликопротеин I антител были разведены буфером для образцов и проанализированы данным методом.

anti-β2-GPI	Образец №	Разведение	Полученное [Ед/мл]	Ожидаемое [Ед/мл]	П/О
IgA	1	1:200	69.6		
		1:400	34.7	34.8	100 %
		1:800	15.7	17.4	90 %
		1:1600	8.7	8.7	100 %
IgA	2	1:100	95.2		
		1:200	44.3	47.6	93 %
		1:400	23.1	23.8	97 %
		1:800	11.4	11.9	96 %
		1:1600	5.0	5.9	85 %

Воспроизводимость
Статистика для коэффициентов вариации (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии, воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	72.9	3.9
2	48.2	5.3
3	9.6	3.5

Между сериями		
Образец No	Среднее x [Ед/мл]	CV [%]
1	71.0	3.4
2	48.1	1.7
3	9.4	2.8

Чувствительность
Нижняя граница определения для анти-β2-гликопротеин I антител составляет 0.5 Ед/мл.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Микропланшет покрыт особо чистым препаратом β2-гликопротеина I. Тест специфичен только по отношению к аутоантителам к β2-гликопротеину I.
Эндогенный β2-гликопротеин I и эндогенные отрицательно заряженные фосфолипиды присутствуют в разведенной (1:100) сыворотке в концентрациях приблизительно 2 мкг/мл и приблизительно 1 мкг/мл, соответственно. Влияния на определение анти-β2-гликопротеин I антител не выявлено.

КАЛИБРОВКА

Поскольку не существует международно признанного стандарта аутоантител к к β2-гликопротеину I, тест-система прокалибрована в относительных единицах. Калибровка была проведена относительно признанной международным стандартом сыворотке E.N. Harris, Louisville. Эта сыворотка положительна по антителам к β2-гликопротеину I.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Анти β2-гликопротеин I IgA ELISA может быть использован в диагностических целях, но сам по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

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.

ЛИТЕРАТУРА

1. Roubey, R.A.S. Review Article: Autoantibodies to phospholipid-binding plasma proteins: a new view of Lupus Anticoagulants and other "antiphospholipid" autoantibodies. Blood 1994; Vol 84, No 9: 2854 - 2867.
2. Schousboe, I. b2-Glycoprotein I: a plasma inhibitor of the contact activation of the intrinsic blood coagulation pathway. Blood 1985; Vol 66, No 5: 1086 - 1091.
3. Lee, N.S. et al. b2-Glycoprotein I - Molecular properties of an unusual apolipoprotein, Apolipoprotein H. J. Biol. Chem. 1983; Vol 258, No 8: 4765 - 4770.
4. Kandiah, D.A. et al. Epitope mapping studies of antiphospholipid antibodies and b2GPI using synthetic peptides. Lupus 1995; Vol 4, Suppl 1: S7 - S11.
5. Matsuura, E. et al. Molecular studies on phospholipid-binding sites and cryptic epitopes appearing on b2-glycoprotein I structure recognized by anti-cardiolipin antibodies. Lupus 1995; Vol 4, Suppl 1: S13 –S17
6. Koike, T. Anticardiolipin Antibodies and b2-Glycoprotein I. Clinical Immunology and Immunopathology 1994; Vol 72, No 2: 187 - 192.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7. Roubey, R.A.S. et al. "Anticardiolipin" autoantibodies recognise b2-Glycoprotein I in the absence of phospholipid. J. Immunol., 1995; Vol 154: 954 - 960.
8. Wang, M.-X. et al. Epitope specificity of monoclonal anti-b2-Glycoprotein I antibodies derived from patients with the antiphospholipid syndrome. J. Immunol., 1995; Vol 155: 1629 - 1636.
9. Arvieux, J. et al. IgG2 subclass restriction of anti-b2-Glycoprotein I antibodies in autoimmune patients. Clin. Exp. Immunol. 1994; Vol 95: 310 - 315.
10. Matsuda, J. et al. Prevalence of b2-glycoprotein I antibody in systemic lupus erythematosus patients with b2-glycoprotein I dependent antiphospholipid antibodies. Ann. Rheum. Dis. 1995; Vol 54: 73 - 75.
11. Martinuzzo, M.E. et al. Anti b2 glycoprotein I antibodies: detection and association with thrombosis. Brit. J. Haematol. 1995; Vol 89: 397 - 402.
12. Balestrieri, G. et al. Anti-beta2-glycoprotein I antibodies: a marker of antiphospholipid syndrome ? Lupus 1995; Vol 4: 122 - 130

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
Антитела к гистонам

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

→ Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

→ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

→ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

→ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ

→ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

→ Выдержите **5 минут**

→ Считайте при **450 нм**

Anti-beta-2-glycoprotein I IgA Orgentec кат№ ORG 521A

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-beta-2-Glycoprotein I Screen

Кат. Номер ORG 521S

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и на английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Настоящий набор предназначен для количественного определения антител классов IgG, IgM и IgA к β2-гликопротеину I (β2GPI) методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) в сыворотке и плазме человека. Метод предназначен только для диагностики *in vitro* и должен использоваться только в целях выявления повышенного риска развития тромбоза у пациентов с системной красной волчанкой (SLE) или с подобными заболеваниями.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Выявление антител к β2-гликопротеину I ассоциировано с такими связанными с антифосфолипидным синдромом заболеваниями, как тромбоз, тромбоцитопения или невынашивание в связи с системной красной волчанкой. β2-гликопротеин I (аполипопротеин H) – это β2-глобулин с молекулярной массой 50 кДа, присутствующий в плазме в концентрации около 200 мкг/мл. Было показано, что β2-гликопротеин I (β2GPI) ингибирует коагуляцию и, таким образом, он вовлечен в регуляцию свертывания крови. β2GPI *in vivo* связан с каким-либо отрицательно заряженным соединением, например, фосфолипидами, гепарином или липопротеинами. Место связывания с фосфолипидами расположено в пятом домене. Не так давно обнаружили, что β2-гликопротеин I является ко-фактором для аутоантител к кардиолипину. Многие исследования подтвердили его незаменимую роль в характерном связывании антител к кардиолипину с иммобилизованным кардиолипином. Детальные исследования, касающиеся природы комплекса кардиолипин/β2GPI показали, что эпитопы пятого домена β2GPI являются мишенью для «анти-кардиолипиновых антител» в отсутствии отрицательно заряженных фосфолипидов. β2GPI является не только необходимым условием связывания анти-кардиолипиновых антител; было показано, что он также является и первичным антигеном для своих собственных аутоантител. Образцы сывороток пациентов, страдающих антифосфолипидным синдромом, были протестированы как на антитела к кардиолипину, так и на антитела к β2GPI . Выявленная хорошая корреляция между этими двумя типами антител подтверждает все вышесказанное. Наличие аутоантител к β2- гликопротеину I описано при различных аутоиммунных заболеваниях. Присутствие анти-β2GPI антител может быть соотнесено с развитием артериального и венозного тромбозов, венозной тромбоэмболии, тромбоцитопении или синдрома невынашивания. Существуют анти-β2-гликопротеин I антитела классов IgG-, IgM- и IgA. Антитела класса IgM являются значимым индикатором при диагностике начальных стадий аутоиммунных заболеваний, тогда как антитела класса IgG выявляются на более поздних стадиях, при выраженных аутоиммунных заболеваниях. Титр анти-β2GPI антител класса IgG хорошо коррелирует с клинической картиной наблюдаемого у пациента тромбоза, тромбоэмболии и повторных выкидышей, тогда как анти-β2GPI антитела класса IgM в значительной степени связаны с тромбозами и тромбоцитопенией. Показаниями к определению анти-β2-гликопротеина I антител являются:

- СКВ
- артериальный и венозный тромбозы
- венозная тромбоэмболия
- тромбоцитопения
- невынашивание

ПРИНЦИП МЕТОДА

Настоящий набор использует принцип непрямого твердофазного ИФА - ELISA. Он предназначен для количественного определения антител классов IgG, IgM и IgA к β2-гликопротеину I. Анализ проводится в микропланшете, покрытом особо чистым препаратом β2-гликопротеина I. Присутствующие в образцах антитела связываются с иммобилизованными в микроячейках антигеном. При промывке удаляют не связавшиеся компоненты сыворотки. Конъюгат антител к IgG, IgM и IgA человека с пероксидазой хрена добавляется в ячейки и иммунологически связывается с аутоантителами из сывороток пациентов, связанных с иммобилизованными антигенами, в результате чего образуется комплекс конъюгат/антитело/антиген. Избыток ферментного конъюгата удаляется при следующей промывке. Раствор хромогенного субстрата в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением 1М соляной кислоты в качестве стоп-раствора, при этом Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого окрашивания определяют фотометрически при 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG, IgM и IgA в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. 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 мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. Он способен образовывать

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

взрывоопасные соединения при длительном контакте с медью или свинцом. При использовании реагентов, содержащих азид натрия необходимо наличие большого количества воды. Азид натрия может быть токсичен при попадании внутрь организма. В концентрациях, присутствующих в реагентах, он не токсичен. Несмотря на классификацию как не токсичного вещества, мы настоятельно рекомендуем следовать обычной лабораторной практике обращения с опасными веществами (см. 8., 9., 10).

7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При выливании реагентов, содержащих Proclin 300, необходимо смывать большим количеством воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.

8. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.

9. Не отбирайте образцы ртом

10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить

11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

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.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых особо чистым препаратом β2-гликопротеина I	1
Контроли антител к β2-гликопротеину I классов IgG, IgM и IgA в сывороточно-буферном (PBS/BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) матриксе: Негативный контроль (A) – 3.3 ед/мл Cut-Off контроль (B) – 10 ед/мл Позитивный контроль (C) – 30 ед/мл Сильно позитивный контроль (D) – 90 ед/мл Готовы к использованию	4 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат 5***x	1 флакон 20 мл
Раствор (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)) ферментного коньюгата (светло-красный), содержащий смесь поликлональных кроличьих античеловеческих анти-IgG-IgG, анти-IgM-IgG, анти-IgA-IgG антител, меченых пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готовы к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат 50***x	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C в их оригинальной упаковке

2. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.

3. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.

4. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.

5. Разведенные буфер для промывок и буфер для образцов стабильны при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Вортекс
- Многоканальные пипетки или дозаторы на 100 мкл
- Пипетки на 10, 100 и 1000 μл
- Лабораторный таймер
- программное обеспечение для анализа данных

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.

2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.

3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.

4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.

5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.

6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.

2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов

3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.

4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.

5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции

6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов

7. Наносите все образцы на дно лунок

8. Для избежания переходящей контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9. Для достижения наилучших результатов необходима тщательная промывка. После промывки тщательно удалите остатки буфера из лунок.
10. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
11. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.
12. Не используйте повторно стрипы микропланшета.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. С использованием этих концентраций может быть построена калибровочная кривая и проведена полуколичественная оценка образцов сывороток пациентов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление образцов

Разбавьте все образцы сывороток пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте.

Контроли и стандарты готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
a	CA	CE	P1	P..								
b	CA	CE	P1	P..								
c	CB	CF	P2									
d	CB	CF	P2									
e	CC	K1	P3									
f	CC	K1	P3									
g	CD	K2	P4									
h	CD	K2	P4									

3. Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре (20-28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация: Тест-система ORGENTEC анти-β2-гликопротеин I Screen ELISA может быть использована с открытым автоматизированным оборудованием для ELISA. Процедура теста, приведенная выше, применима как для ручного так и для автоматического исполнения.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Негативного контроля (A), Cut-Off контроля (B), Позитивный контроля (C) и Сильно позитивного контроля (D) полностью совпадают 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 расчета результатов данного теста рекомендуется непосредственное сравнение оптической плотности образца каждого пациента с оптической плотностью контролей. Образцы с оптической плотностью выше, чем оптическая плотность контроля cut-off, считаются положительными.

Отрицательный: ОП пациента < ОП cut-off контроля
Положительный: ОП пациента > ОП cut-off контроля
Сильноположительный: ОП пациента ≥ ОП сильноположительного контроля

Для полуколичественного расчета результатов теста могут быть использованы концентрации и результаты измерения ОП контролей, которые используются для построения калибровочной кривой (рекомендуемая кривая - 4-параметрическая в полулогарифмических координатах). Концентрации неизвестных образцов рассчитываются по калибровочной кривой.

Cut-off: 10ед/мл

При положительном результате в скрининговом тесте дальнейшее типирование аутоантител к β2GPI должно проводиться с использованием наборов для количественного определения антител классов IgG, IgM и IgA.

Данный набор определяет сумму аутоантител всех трех классов (IgG, IgM и IgA). Образцы пациентов, содержащие 2 или 3 класса аутоантител к β2GPI в низких концентрациях могут быть положительными в данном скрининговом тесте благодаря суммирующему эффекту. Такие образцы могут оказаться отрицательными при исследовании на отдельные классы аутоантител (IgG, IgM и IgA).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Микропланшет покрыт особо чистым препаратом β2-гликопротеина I. Тест специфичен только по отношению к аутоантителам к β2-гликопротеину I.

Эндогенный β2-гликопротеин I и эндогенные отрицательно заряженные фосфолипиды присутствуют в разведенной (1:100) сыворотке в концентрациях приблизительно 2 мкг/мл и приблизительно 1 мкг/мл, соответственно. Влияния на определение анти-β2-гликопротеин I антител не выявлено.

КАЛИБРОВКА

Поскольку не существует международно признанного стандарта аутоантител к к β2-гликопротеину I, тест-система прокалибрована в относительных единицах. Калибровка была проведена относительно признанной международным стандартом сыворотке E.N. Harris, Louisville. Эта сыворотка положительна по антителам к β2-гликопротеину I.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Анти β2-гликопротеин I Screen ELISA может быть использован в диагностических целях, но сам по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

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.

ЛИТЕРАТУРА

1. Roubey, R.A.S. Review Article: Autoantibodies to phospholipid-binding plasma proteins: a new view of Lupus Anticoagulants and other "antiphospholipid" autoantibodies. Blood 1994; Vol 84, No 9: 2854 - 2867.
2. Schousboe, I. b2-Glycoprotein I: a plasma inhibitor of the contact activation of the intrinsic blood coagulation pathway. Blood 1985; Vol 66, No 5: 1086 - 1091.
3. Lee, N.S. et al. b2-Glycoprotein I - Molecular properties of an unusual apolipoprotein, Apolipoprotein H. J. Biol. Chem. 1983; Vol 258, No 8: 4765 - 4770.
4. Kandiah, D.A. et al. Epitope mapping studies of antiphospholipid antibodies and b2GPI using synthetic peptides. Lupus 1995; Vol 4, Suppl 1: S7 - S11.
5. Matsuura, E. et al. Molecular studies on phospholipid-binding sites and cryptic epitopes appearing on b2-glycoprotein I structure recognized by anti-cardiolipin antibodies. Lupus 1995; Vol 4, Suppl 1: S13 –S17
6. Koike, T. Anticardiolipin Antibodies and b2-Glycoprotein I. Clinical Immunology and Immunopathology 1994; Vol 72, No 2: 187 - 192.
7. Roubey, R.A.S. et al. "Anticardiolipin" autoantibodies recognise b2-Glycoprotein I in the absence of phospholipid. J. Immunol., 1995; Vol 154: 954 - 960.
8. Wang, M.-X. et al. Epitope specificity of monoclonal anti-b2-Glycoprotein I antibodies derived from patients with the antiphospholipid syndrome. J. Immunol., 1995; Vol 155: 1629 - 1636.
9. Arvieux, J. et al. IgG2 subclass restriction of anti-b2-Glycoprotein I antibodies in autoimmune patients. Clin. Exp. Immunol. 1994; Vol 95: 310 - 315.
10. Matsuda, J. et al. Prevalence of b2-glycoprotein I antibody in systemic lupus erythematosus patients with b2-glycoprotein I dependent antiphospholipid antibodies. Ann. Rheum. Dis. 1995; Vol 54: 73 - 75.
11. Martinuzzo, M.E. et al. Anti b2 glycoprotein I antibodies: detection and association with thrombosis. Brit. J. Haematol. 1995; Vol 89: 397 - 402.
12. Balestrieri, G. et al. Anti-beta2-glycoprotein I antibodies: a marker of antiphospholipid syndrome ? Lupus 1995; Vol 4: 122 - 130

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

1. Добавьте в ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и образцов

→ Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре

→ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата

→ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

→ Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ

→ Инкубируйте **15 мин**. при комнатной температуре

4. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора

→ Выдержите **5 минут**

→ Считайте при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

ORGENTEC

CE

529_4

ORG 529 Anti-Phospholipid Screen IgG/IgM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Anti-Phospholipid Screen IgG/IgM (Анти-Фосфолипидный скриннинг IgG/IgM) представляет собой тест-систему ELISA для скрининга на наличие аутоантител класса IgG и IgM к кардиолипину, фосфатидилсерину, фосфатидил инозитолу, фосфатидной кислоте и бета-2-гликопротеину I в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики.
Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - системное аутоиммунное заболевание, вызывающее тромбозы, повторные выкидыши или мертворождения, а также инсульт. Клинические симптомы сопровождаются специфическими аутоантителами в крови, которые связываются с фосфолипидами, такими как кардиолипин, или фосфолипидсвязывающими белками, такими как бета-2-гликопротеин I. Аутоантитела против белков каскада свертывания крови, например протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов с АФС с отрицательными результатами в отношении фосфолипидных антител. При первичном АФС аутоантитела против фосфолипидов появляются независимо, в то время как при вторичном АФС фосфолипидные антитела обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
529_4	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR A	Калибратор
CALIBRATOR B	Калибратор
CALIBRATOR C	Калибратор
CALIBRATOR D	Калибратор
CALIBRATOR E	Калибратор
CALIBRATOR F	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE G	Ферментный конъюгат
CONJUGATE M	Ферментный коньюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Смесь высокоочищенного кардиолипина, фосфатидилсерина, фосфатидил инозитола, фосфатидной кислоты и человеческого бета-2-гликопротеина I абсорбированы на поверхности микропланшетных лунок. Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами: Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 529	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Код продукта на модуле: PSC
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 0 Ед/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 6,3 Ед/мл, содержащий антитела к фосфолипиду в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 12,5 Ед/мл, содержащий антитела к фосфолипиду в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 25 Ед/мл, содержащий антитела к фосфолипиду в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 50 Ед/мл, содержащий антитела к фосфолипиду в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F	1x 1.5 ml	Калибратор F 100 Ед/мл, содержащий антитела к фосфолипиду в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 ml	Контроль положительный, содержащий антитела к фосфолипиду в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA,детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий антитела к фосфолипиду в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Дилюент P, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE G	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий античеловеческие IgG-антитела, меченные HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
CONJUGATE M	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий античеловеческие IgM-антитела, меченные HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления.

Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.

- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.

Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru
ORG 529_IFU_EN_QM113163_2018-01-02_4 page 4

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A	P1	A	P1								
B	B	P2	B	P2								
C	C	P3	C	P3								
D	D	P4	D	P4								
E	E	P5	E	P5								
F	F	P6	F	P6								
G	C+	P7	C+	P7								
H	C-	P8	C-	P8								
	IgG	IgG	IgM	IgM								

P1, ... Проба пациента A-F Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.

Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Калибровка

Калибровка проведена с международно признанными эталонными сыворотками E.N. Harris, Луисвилл, а также с IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет IgG: 0 - 100 GPL-U/ml IgM: 0 - 100 MPL-U/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off IgG:10 GPL-U/ml IgM:10 MPL-U/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный:	IgG < 10 GPL-U/ml	IgM < 10 MPL-U/ml
Положительный:	≥ 10 GPL-U/ml	≥ 10 MPL-U/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый GPL/MPL-U/ml	Ожидаемый GPL/MPL-U/ml	H/O [%]
IgG 1	1:100	98.0	98.4	100
	1:200	49.6	49.2	101
	1:400	24.3	24.6	99
	1:800	12.0	12.3	98
	1:1600	5.8	6.2	94
IgG 2	1:100	92.4	92.4	100
	1:200	45.9	46.2	99
	1:400	22.7	23.1	98
	1:800	11.4	11.6	99
	1:1600	5.4	5.8	94
IgM 1	1:100	92.7	92.7	100
	1:200	45.7	46.4	99
	1:400	22.8	23.2	98
	1:800	11.2	11.6	97
	1:1600	5.4	5.8	93
IgM 2	1:100	72.4	74.2	100
	1:200	36.5	37.1	98
	1:400	18.7	18.6	101
	1:800	8.9	9.3	96
	1:1600	4.4	4.6	95

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: IgG: 0.5 GPL-U/ml IgM: 0.5 MPL-U/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.

Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ IgG		
Проба	Значение GPL-U/ml	CV %
1	10.4	5.1
2	18.7	3.4
3	59.9	5.2

Анализ между сериями IgG		
Проба	Значение GPL-U/ml	CV %
1	10.0	3.6
2	17.7	5.4
3	57.9	4.9

Внутри серии анализ IgM		
Проба	Значение MPL-U/ml	CV %
1	12.8	4.1
2	30.8	3.5
3	63.8	3.7

Анализ между сериями IgM		
Проба	Значение MPL-U/ml	CV %
1	12.6	5.3
2	31.9	4.1
3	62.1	4.2

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	Поз IgG	%	Поз IgM	%
Первичный АФС	8	7	87.5	6	75.0
Вторичный АФС	65	60	92.3	33	50.8
Нормальные человеческие сыворотки	150	4	2.7	5	3.3

		Клинический Диагноз: Поз	Клинический Диагноз: Нег	
ORG 529 IgG	Поз	67	4	
	Нег	6	146	
		73	150	223
Чувствительность:	91.8 %			
Специфичность:	97.3 %			
Общая достоверность:	95.5 %			

		Клинический Диагноз: Поз	Клинический Диагноз: Нег	
ORG 529 IgM	Поз	39	5	
	Нег	34	145	
		73	150	223
Чувствительность:	53.4 %			
Специфичность:	96.7 %			
Общая достоверность:	82.5 %			

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Приведенные выше патологические и нормальные референтные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2)Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011; 20(2):191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4):192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Favaloro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, Ioannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lond 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3):129-33.
16. Lakos G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tripodi A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anti-cardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль

Прежняя версия: *ORG 529_IFU_EN_QM113163_2016-04-18_3* Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

ORGENTEC

CE

535_3

ORG 535 Anti-Phosphatidyl Serine IgG/IgM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Anti-Phosphatidyl Serine IgG/IgM (Антифосфатидилсерин IgG/IgM) - это тест-система ELISA для количественного измерения аутоантител класса IgG и IgM к фосфатидилсерину в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики.
Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - системное аутоиммунное заболевание, вызывающее тромбозы, повторные выкидыши или мертворождения, а также инсульт. Клинические симптомы сопровождаются специфическими аутоантителами в крови, которые связываются с фосфолипидами, такими как кардиолипин, или фосфолипидсвязывающими белками, такими как бета-2-гликопротеин I. Аутоантитела против белков каскада свертывания крови, например протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов с АФС с отрицательными результатами в отношении фосфолипидных антител. При первичном АФС аутоантитела против фосфолипидов появляются независимо, в то время как при вторичном АФС фосфолипидные антитела обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
535_3	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR A	Калибратор
CALIBRATOR B	Калибратор
CALIBRATOR C	Калибратор
CALIBRATOR D	Калибратор
CALIBRATOR E	Калибратор
CALIBRATOR F	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE G	Ферментный конъюгат
CONJUGATE M	Ферментный коньюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Высокоочищенный фосфатидилсерин, насыщенный бета-2-гликопротеином I, абсорбирован на поверхности микропланшетных лунок .
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами: Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 535	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Код продукта на модуле: PPS
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 0 Ед/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 6,3 Ед/мл, содержащий антитела к фосфотидил серину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 12,5 Ед/мл, содержащий антитела к фосфотидил серину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 25 Ед/мл, содержащий антитела к фосфотидил серину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 50 Ед/мл, содержащий антитела к фосфотидил серину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F	1x 1.5 ml	Калибратор F 100 Ед/мл, содержащий антитела к фосфотидил серину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 ml	Контроль положительный, содержащий антитела к фосфотидил серину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA,детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий антитела к фосфотидил серину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Дилюент P, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE G	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий античеловеческие IgG-антитела, меченные HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
CONJUGATE M	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий античеловеческие IgM-антитела, меченные HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления. Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.
- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.
Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A	P1	A	P1								
B	B	P2	B	P2								
C	C	P3	C	P3								
D	D	P4	D	P4								
E	E	P5	E	P5								
F	F	P6	F	P6								
G	C+	P7	C+	P7								
H	C-	P8	C-	P8								
	IgG	IgG	IgM	IgM								

P1, ... Проба пациента A-F Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.

Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Калибровка

Калибровка проведена с международно признанными эталонными сыворотками E.N. Harris, Луисвилл, а также с IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет IgG: 0 - 100 GPL-U/ml IgM: 0 - 100 MPL-U/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off IgG:10 GPL-U/ml IgM:10 MPL-U/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный:	IgG < 10 GPL-U/ml	IgM < 10 MPL-U/ml
Положительный:	≥ 10 GPL-U/ml	≥ 10 MPL-U/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый GPL/MPL-U/ml	Ожидаемый GPL/MPL-U/ml	H/O [%]
IgG 1	1:100	94.6	94.6	100
.	1:200	46.9	47.3	99
.	1:400	24.2	23.7	102
.	1:800	11.5	11.8	97
.	1:1600	5.6	5.9	95
IgG 2	1:100	71.6	71.6	100
.	1:200	35.2	35.8	98
.	1:400	18.3	17.9	102
.	1:800	8.7	9.0	97
.	1:1600	4.1	4.5	91
IgM 1	1:100	88.2	88.2	100
.	1:200	44.2	44.1	100
.	1:400	21.8	22.1	99
.	1:800	10.7	11.0	97
.	1:1600	5.3	5.5	96
IgM 2	1:100	68.2	68.2	100
.	1:200	33.8	34.1	99
.	1:400	16.8	17.1	98
.	1:800	8.2	8.5	96
.	1:1600	3.9	4.3	91

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: IgG: 0.5 GPL-U/ml IgM: 0.5 MPL-U/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.

Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ IgG		
Проба	Значение GPL-U/ml	CV %
1	10.4	5.1
2	18.7	3.4
3	59.9	5.2

Анализ между сериями IgG		
Проба	Значение GPL-U/ml	CV %
1	10.0	3.6
2	17.7	5.4
3	57.9	4.9

Внутри серии анализ IgM		
Проба	Значение MPL-U/ml	CV %
1	12.8	4.1
2	30.8	3.5
3	63.8	3.7

Анализ между сериями IgM		
Проба	Значение MPL-U/ml	CV %
1	12.6	5.3
2	31.9	4.1
3	62.1	4.2

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	Поз IgG	%	Поз IgM	%
Первичный АФС	8	6	75.0	4	50.0
Вторичный АФС	65	54	83.1	25	38.5
Нормальные человеческие сыворотки	150	5	3.3	4	2.7

		Клинический Диагноз: Поз	Клинический Диагноз: Нег	
ORG 535 IgG	Поз	60	5	
	Нег	13	145	
		73	150	223
Чувствительность:		82.2 %		
Специфичность:		96.7 %		
Общая достоверность:		91.9 %		

		Клинический Диагноз: Поз	Клинический Диагноз: Нег	
ORG 535 IgM	Поз	29	4	
	Нег	44	146	
		73	150	223
Чувствительность:		39.7 %		
Специфичность:		97.3 %		
Общая достоверность:		78.5 %		

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Приведенные выше патологические и нормальные референтные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2)Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011; 20(2):191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4):192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Favaloro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, Ioannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lond 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3):129-33.
16. Lakos G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tripodi A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anti-cardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль
Прежняя версия: *ORG 535_IFU_EN_QM113169_2013-12-16_1.2* Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

ORGENTEC

CE

536_3

ORG 536 Anti-Phosphatidyl Inositol IgG/IgM

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Anti-Phosphatidyl Inositol IgG/IgM (Анти-Фосфотидил Инозитол IgG/IgM) представляет собой тест-систему ELISA для количественного измерения аутоантител класса IgG и IgM к фосфатидил инозитолу в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики. Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - системное аутоиммунное заболевание, вызывающее тромбозы, повторные выкидыши или мертворождения, а также инсульт. Клинические симптомы сопровождаются специфическими аутоантителами в крови, которые связываются с фосфолипидами, такими как кардиолипин, или фосфолипидсвязывающими белками, такими как бета-2-гликопротеин I. Аутоантитела против белков каскада свертывания крови, например протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов с АФС с отрицательными результатами в отношении фосфолипидных антител. При первичном АФС аутоантитела против фосфолипидов появляются независимо, в то время как при вторичном АФС фосфолипидные антитела обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro
	Производитель
REF	Номер по каталогу
96	Достаточно для 96 определений
LOT	Код партии
	Использовать до
2°C 8°C	Ограничение температуры
	Хранить вдали от солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC
	Обратитесь к инструкции по применению
536_3	Электронная Инструкция: версия

MICROPLATE	Микропланшет
CALIBRATOR A	Калибратор
CALIBRATOR B	Калибратор
CALIBRATOR C	Калибратор
CALIBRATOR D	Калибратор
CALIBRATOR E	Калибратор
CALIBRATOR F	Калибратор
CONTROL +	Контроль положительный
CONTROL −	Контроль отрицательный
DILUENT	Дилюент
CONJUGATE G	Ферментный конъюгат
CONJUGATE M	Ферментный коньюгат
TMB	TMB Субстрат
STOP	Стоп-реагент
WASH	Промывочный буфер
RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

PRINCIPLE OF THE TEST

Высокоочищенный фосфатидил Инозитол, насыщенный бета-2-гликопротеином I, абсорбирован на поверхности микропланшетных лунок .
Определение основано на непрямой иммуноферментной реакции со следующими этапами: Специфические антитела в образце пациента связываются с антигеном, нанесенным на поверхность реакционных лунок. После инкубации на стадии промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные компоненты сыворотки или плазмы. Добавленный в последующем ферментный конъюгат связывается с иммобилизированными комплексами антиген-антитело. После инкубации на второй стадии промывки удаляется несвязанный ферментный конъюгат. После добавления раствора субстрата связанный ферментный конъюгат гидролизует субстрат, образуя синее окрашивание. Добавление кислоты останавливает реакцию, образуя желтое конечное окрашивание. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует с концентрацией комплекса антиген-антитело и может быть измерена фотометрически при 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной in vitro диагностики.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.
  При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:
- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:
  Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.
- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.
  Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.
- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.
  Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 529	Σ 96	Достаточно для 96 определений
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящий из 12 модулей по 8 лунок в каждом. Готов к использованию. Код продукта на модуле: PSC
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 0 Ед/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 6,3 Ед/мл, содержащий антитела к Фосфотидил Инозитолу в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 12,5 Ед/мл, содержащий антитела к Фосфотидил Инозитолу в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 25 Ед/мл, содержащий антитела к Фосфотидил Инозитолу в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 50 Ед/мл, содержащий антитела к Фосфотидил Инозитолу в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F	1x 1.5 ml	Калибратор F 100 Ед/мл, содержащий антитела к Фосфотидил Инозитолу в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 ml	Контроль положительный, содержащий антитела к Фосфотидил Инозитолу в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA,детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий антитела к Фосфотидил Инозитолу в сыворотке/ буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Дилюент P, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE G	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий античеловеческие IgG-антитела, меченные HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
CONJUGATE M	15 ml	Ферментный конъюгат, содержащий античеловеческие IgM-антитела, меченные HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ProClin 0,05%, светло-красный. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывочный буфер, содержащий Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Фотометр микропланшетный с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: референсный фильтр 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или пипетка-репитер на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Дозаторы на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Храните тестовый набор при температуре 2-8°C в темноте.
- Не подвергайте реагенты воздействию высокой температуры, солнца или яркого света во время хранения и использования.
- Храните микропланшет запечатанным и сухим в прилагаемом зажимном пакете.
- Срок годности нераспечатанного тестового набора составляет 18 месяцев со дня изготовления. Неоткрытые реагенты остаются стабильными до истечения срока годности набора. Смотрите этикетки для отдельных партий.
- Разбавленный Промывочный буфер и буфер для образцов стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C. Мы рекомендуем использовать в тот же день.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны определения в дублях. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микроэлементы и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки для микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Дилюент P: Перед использованием разбавьте содержимое (20 мл) одного флакона концентрата буфера для образцов 5x дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 100 мл.

Подготовка образцов

Разбавьте образцы пациентов 1:100 перед анализом: Внесите 990 мкл предварительно разбавленного буфера для образцов в полистироловую пробирку и добавьте 10 мкл образца. Хорошо перемешайте.
Примечание: Калибраторы/ контроли готовы к использованию и их не нужно разбавлять.

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A	P1	A	P1								
B	B	P2	B	P2								
C	C	P3	C	P3								
D	D	P4	D	P4								
E	E	P5	E	P5								
F	F	P6	F	P6								
G	C+	P7	C+	P7								
H	C-	P8	C-	P8								
	IgG	IgG	IgM	IgM								

P1, ... Проба пациента A-F Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.

Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Калибровка

Калибровка проведена с международно признанными эталонными сыворотками E.N. Harris, Луисвилл, а также с IRP 97/656 (IgG) и HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет IgG: 0 - 100 GPL-U/ml IgM: 0 - 100 MPL-U/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off IgG:10 GPL-U/ml IgM:10 MPL-U/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный:	IgG < 10 GPL-U/ml	IgM < 10 MPL-U/ml
Положительный:	≥ 10 GPL-U/ml	≥ 10 MPL-U/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый GPL/MPL-U/ml	Ожидаемый GPL/MPL-U/ml	H/O [%]
IgG 1	1:100	90.4	90.4	100
.	1:200	45.3	45.2	100
.	1:400	22.1	22.6	98
.	1:800	10.9	11.3	96
.	1:1600	5.7	5.7	100
IgG 2	1:100	74.0	74.0	100
.	1:200	36.8	37.0	99
.	1:400	18.7	18.5	101
.	1:800	9.0	9.3	97
.	1:1600	4.4	4.6	96
IgM 1	1:100	84.0	84.0	100
.	1:200	42.2	42.0	100
.	1:400	20.8	21.0	99
.	1:800	10.3	10.5	98
.	1:1600	5.0	5.3	94
IgM 2	1:100	64.0	64.0	100
.	1:200	31.8	32.0	99
.	1:400	15.7	16.0	98
.	1:800	8.1	8.0	101
.	1:1600	3.6	4.0	90

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: IgG: 0.5 GPL-U/ml IgM: 0.5 MPL-U/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.

Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ IgG		
Sample	Mean GPL-U/ml	CV %
1	11.2	2.9
2	25.9	3.5
3	49.4	3.1

Анализ между сериями IgG		
Sample	Mean GPL-U/ml	CV %
1	10.8	6.4
2	25.7	5.1
3	48.4	4.7

Внутри серии анализ IgM		
Sample	Mean MPL-U/ml	CV [%]
1	12.7	3.1
2	23.7	3.4
3	45.2	3.4

Анализ между сериями IgM		
Sample	Mean MPL-U/ml	CV [%]
1	13.2	3.9
2	24.1	4.8
3	46.5	5.0

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	Поз IgG	%	Поз IgM	%
Первичный АФС	8	6	75.0	4	50.0
Вторичный АФС	65	52	80.0	23	35.4
Нормальные человеческие сыворотки	150	6	4.0	4	2.7

		Клинический Диагноз: Поз	Клинический Диагноз: Нег	
ORG 536 IgG	Поз	58	6	
	Нег	15	144	
		73	150	223
Чувствительность:		79.5 %		
Специфичность:		96.0 %		
Общая достоверность:		90.6 %		

		Клинический Диагноз: Поз	Клинический Диагноз: Нег	
ORG 536 IgM	Поз	27	4	
	Нег	46	146	
		73	150	223
Чувствительность:		37.0 %		
Специфичность:		97.3 %		
Общая достоверность:		77.6 %		

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Приведенные выше патологические и нормальные референтные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2)Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011; 20(2):191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4):192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Favaloro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, Ioannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lond 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3):129-33.
16. Lakos G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tripodi A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anti-cardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский союз):
О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль
Прежняя версия: *ORG 536_IFU_EN_QM113170_2013-12-16_1.2* Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-Phosphatidic Acid IgG/IgM

Кат. № ORG 537

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского оригинала. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный метод Anti-Phosphatidic Acid предназначен для количественного определения IgG и IgM антител к фосфатидиловой кислоте в человеческой сыворотке или плазме методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Набор предназначен только для диагностики in vitro с целью диагностики повышенного риска тромбоза у пациентов с системной красной волчанкой (SLE) или волчаночно-подобными заболеваниями.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Первое исследование анти-фосфолипидных антител было начато в 1906, когда Wasserman предложил серологический тест на сифилис. В 1942, было показано, что активным компонентом является фосфолипид, который был назван кардиолипином. В 1950х годах стало понятно, что у большого количества людей результаты теста на сифилис положительные, но без каких-либо данных о наличии заболевания. Этот феномен отнесли к биологическому ложноположительному результату на серологический тест для выявления сифилиса. Была показана высокая встречаемость аутоиммунных заболеваний, включая системную красную волчанку (SLE) и синдром Шегрена в этой группе пациентов.

Присутствие циркулирующих антикоагулянтов у больных с SLE впервые было показано в 1952, а в 1963 было ассоциировано с повышенным риском парадоксального тромбоза.

Термин волчаночный антикоагулянт (LA), впервые использованный в 1972, абсолютно неправильный, так как LA гораздо чаще встречается у пациентов, не страдающих волчанкой, и ассоциирован с тромбозом а не с аномальным кровотечением.

За последнее время стало ясно, что оптимальное связывание анти-фосфолипидный антител зависит от ко-фактора, называемого β2-гликопротеин I (аполипоротин H, β2GPI). β2GPI – это 50 кДа β2-глобулин, присутствующий в плазме в концентрации около 200 мкг/мл. Было показано, что β2-гликопротеин I ингибирует нормальный путь коагуляции и, таким образом, участвует в регуляции коагуляции крови. in vivo β2GPI ассоциирован с отрицательно заряженными веществами, ткими как анионные фосфолипиды, гепарин и липопротеины. Фосфолипид-связывающая область расположена в его пятом домене.

Под акронимом "aPL" (анти-фосфолипидные антитела) принято подразумевать антитела к отрицательно заряженным фосфолипидам, таким как CL (кардиолипин), LA (волчаночный антикоагулянт), PS (фосфатидилсерин), PI (фосфатидилинозитол) и PA (фосфатидиловая кислота). Среди них кардиолипин является фосфолипидом, наиболее часто используемым в качестве антигена для выявления aPL методом ELISA. Некоторые антисыворотки, которые связываются с микропланшетами, покрытыми кардиолипином, могут также связываться с микропланшетами. Покрытыми и другими отрицательно заряженными фосфолипидами, таким как фосфатидилсерин (PS), фосфатидилинозитол и фосфатидиловая кислота (PA).

Некоторые ученые предположили, что использование PS вместо кардиолипина в ELISA может дать возможность более специфичной диагностики. Эти антигены не так часто используются и дополнительное их использование может повысить клиническую чувствительность теста у пациентов при подозрении на APS (анти-фосфолипидный синдром), но они не могут замнить измерение аутоантител к кардиолипину.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета, насыщенные β2-гликопротеином I, покрыты высокоочищенной фосфатидиловой кислотой. В ходе анализа происходят связывание аутоантител к этим антигенам, присутствующих в разведенном образце сыворотки или плазмы, с соответствующим антигеном. При промывке удаляются все несвязавшиеся компоненты. При последующей инкубации с конъюгатом пероксидазы хрена (HRP) с антителами к человеческим IgG и IgM образуется комплекс конъюгат/антитела, присутствующие в образце/антиген. При промывке удаляется несвязавшийся конъюгат. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого окрашивания.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Добавление кислого стоп-раствора останавливает реакцию, при этом окрашивание меняется на желтое. Интенсивность получившегося желтого окрашивания, измеряемая фотометрически при длине волны 450 нм, прямо пропорциональна концентрации IgG и IgM антител, присутствующих в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. 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.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов и буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN3) является высоко токсичным веществом и реактивен в чистом виде. В концентрациях, присутствующих в наборе (0.09%), он не опасен. Несмотря на лассификацию как не опасное вещество, рекомендуется соблюдать правила хорошей лабораторной практики (см. 8., 9., 10.).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, тщательно промывайте водопроводную систему большим количеством воды, для разведения ниже активного уровня.
8. При работе с образцами и реагентами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Соблюдайте руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенной фосфатидиловой кислотой и насыщенных β2-гликопротеином I.	1
Комбинированные калибраторы с IgG и IgM анти-фосфолипидными антителами (A-F) в сывороточном/буферном матриксе, (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) содержащие: 0; 6.3; 12.5; 25; 50 и 100 GPL Ед/мл, 0; 6.3; 12.5; 25; 50 и 100 MPL Ед/мл. Готовы к использованию	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли анти-фосфолипидных антител в сывороточном/буферном матриксе, (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) (положительный (1) и отрицательный (2)), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат*** (5x).	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи антитела против IgG антител человека, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи антитела против IgM антител человека, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию	1 флакон 15 мл
Буфер для промывок (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), ***концентрат (50x).***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Храните набор при 2-8 °C.
2. Храните микропланшет запечетанным, в сухом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергайте реагенты нагреванию, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования.
5. Разведенный буфер для обраразцов и буфер для промывок стабильны в течений 30 дней при хранении при 2-8 °C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Программное обеспечение для обработки результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови обычной венопункцией, избегая гемолиза.
2. Дайте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3. Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Избегайте тестирования гемолизных или липемичных образцов, хотя ни гемолиз, ни липемия не влияют на результаты анализа.
4. Образцы могут храниться при 2-8 °C до 5 дней и при -20 °C до 6 месяцев.
5. Избегайте повторных циклов замораживания/оттаивания. Это может привести к различным потерям активности аутиантител.
6. Не рекомендуется тестировать образцы, инактивированные нагреванием.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2. Не заменяйте компоненты набора реагентами из других лотов.
3. Все материалы должны достичь комнатной температуры (20-28 °C) перед тестированием.
4. Перед началом анализа подготовьте все реагнты и образцы. После начала процедуры анализа должны выполняться без остановок, для получения наиболее достоверных и точных результатов.
5. Выполняйте все шаги анализа только в полном соответствии с данной инструкцией.
6. Всегд используйте свежие разведения образцов.
7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
8. Чтобы избежать перекрестной контаминации меняйте наконечники перед нанесением каждого образца и контроля.
9. Для достижения наиболее точных результатов очень важно тщательно промывать лунки микропланшета и удалить после промывки весь промывочный буфер из лунок.
10. Все инкубации должны проводиться строго в течение указанного времени.
11. Контрольные сыворотки или пулы должны тестироваться при каждой постановке, также, как и образцы, для проверки качества используемых реагентов и выполняемого анализа.
12. Не используйте лунки микропланшета повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации, можно построить калибровочную кривую, для получения полуколичественных результатов для тестируемых образцов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл, перед использованием. Готовый буфер для образцов хрниться при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Готовый промывочный буфер храниться при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Подготовка образцов

Разведите все образцы в 100 раз буфером для образцов перед тестированием. Например, внесите 10 мкл образца в 990 мкл буфера для образцов, в полистироловой пробирке. Тщательно перемешайте.

Контроли уже готовы к использованию, их не требуется разводить!

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей и предварительно разведенных образцов, в дублях.

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
a	CA	CE	P1	P5		
b	CA	CE	P1	P5		
c	CB	CF	P2	P..		
d	CB	CF	P2	P..		
e	CC	K1	P3			
f	CC	K1	P3			
g	CD	K2	P4			
h	CD	K2	P4			

CA-CF: стандарты A - F
P1, P2...: образцы 1, 2 ...
K1: положительный контроль
K2: отрицательный контроль

2. Внесите по **100 мкл** соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов, в дублях, в соответствующие лунки.

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20 - 28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного буфера.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую лунку.

6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое лунок и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного буфера.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую лунку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую лунку и выдержите 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты.

Рекомендуется бихроматическое считывание с длиной волны сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Метод ORGENTEC Anti-Phosphatidic Acid IgG/IgM ELISA может быть выполнен с помощью открытого автоматического ИФА анализатора. Процедура метода, описанная выше, пригодна как для автоматического, так и для ручного выполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Анализ данный методом может считаться достоверным только в случае, если оптическая плотность положительного контроля (1) и отрицательного контроля (2), а также стандартов A – F, измеренная при длине волны 450 нм, попадает в диапазон допустимых значений, указанных в сертификате контроля качества, посталяемом в наборе! Если какой-либо из этих критериев не выполняется, результаты считаются не достоверными и тест должен быть выполнен еще раз.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой зависимости оптической плотности от концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Рассчитайте среднюю оптическую плотность каждого калибратора по результатам измерения в дублях и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные оптические плотности стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах пациентов.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе при определении анти-фосфолипидных антител класса IgG и IgM. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Стандарты										
анти-PA	No	Лунка	ОП 1	ОП 2	Сред-нее	Конц. 1	Конц. 2	Сред-нее	Заявл Конц.	CV %
IgG	STA	A 1/B 1	0.085	0.091	0.088	0.0	0.3	0.2	0.0	5
IgG	STB	C 1/D 1	0.277	0.222	0.225	6.0	5.8	5.9	6.3	2
IgG	STC	E 1/F 1	0.370	0.376	0.373	12.0	12.3	12.2	12.5	1
IgG	STD	G 1/H 1	0.687	0.703	0.695	26	27	27	25	2
IgG	STE	A 2/B 2	1.109	1.113	1.111	48	48	48	50	0
IgG	STF	C 2/D 2	1.911	1.881	1.896	102	100	101	100	1
IgM	STA	A 7/B 7	0.031	0.033	0.032	0.0	0.1	0.0	0.0	4
IgM	STB	C 7/D 7	0.239	0.249	0.244	6.1	6.3	6.2	6.3	3
IgM	STC	E 7/F 7	0.458	0.465	0.462	12.5	12.7	12.6	12.5	1
IgM	STD	G 7/H 7	0.791	0.826	0.809	24	26	25	25	3
IgM	STE	A 8/B 8	1.289	1.299	1.294	50	51	50	50	1
IgM	STF	C 8/D 8	1.791	1.784	1.788	101	99	100	100	0

Интерпретация результатов

При исследовании нормального диапазона значений анти-фосфолипидных антител с использованием данного теста у здоровых доноров получены следующие значения:

антитела к фосфатидиловой кислоте		
	IgG [GPL Ед/мл]	IgM [MPL Ед/мл]
нормальный уровень	< 10	< 10
повышенный уровень	≥ 10	≥ 10

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории устанавливать свои собственные нормальные и патологические диапазоны сывороточных антител к фосфатидиловой кислоте.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Микропланшет покрыт очищенной фосфатидиловой кислотой и насыщен человеческим β2-гликопротеином I.

Специальный процесс нанесения, разработанный производителем, гарантирует сохранение нативной иммуногенной структуры фосфолипидов после иммобидизации на твердой фазе. Данный метод ИФА специфическим выявляет антитела к соответствующим фосфолипидам или комплексам отрицательно заряженных фосфолипидов и β2-гликопротеина I. Не наблюдалось перекрестной реактивности с анти-ДНА антителами и антителами, присутствующими при сифилисе.

КАЛИБРОВКА

Данный метод прокалиброван по сыворотке, международно признанной в качестве референсной, из лаборатории E.N. Harris, г. Луисвилл, так как не существует другого международного стандарта.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Данный Метод Anti-Phosphatidic Acid IgG/IgM ELISA может быть использован в диагностических целях. Конечный клинический диагноз не должен шсновываться только на результатах отдельного теста, но должен был поставлен врачем на основании всех клинических и лабораторных исследований.

ВЛИЯЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Не наблюдалось интерференции при тестировании образцов с гемолизом (до 1000 мг/дл), липемией (до 3 г/дл триглицеридов) или билирубином (до 40 мг/дл). Также не было обнаружено влияния использования различных антикоагулянтов.

Однако, из практических соображений рекомендуется избегать использования сильно гемолизных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-Protrombin IgG/IgM

96 тестов

Кат. № ORG 541

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный метод Anti-Protrombin IgG/IgM предназначен для количественного определения IgG и IgM аутоантител к протромбину в человеческой сыворотке или плазме методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Набор предназначен только для диагностики in vitro с целью диагностики риска возникновения тромбозов у пациентов, страдающих системной красной волчанкой или волчаночными заболеваниями.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Антифосфолипидные антитела ассоциируются с венозными и артериальными тромбозами, а также с хроническим невынашиванием беременности. У пациентов с подобной симптоматикой и высокими уровнями антител к фосфолипидам диагностируют антифосфолипидный синдром (АФС). АФС может проявляться у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) или другими аутоиммунными заболеваниями (вторичный АФС), или у пациентов без предшествующих аутоиммунных процессов (вторичный АФС).

В клинической практике иммуноферментное определение антител к кардиолипину является одним из наиболее ценных и стандартизированных тестов для диагностики АФС.

Недавно семейство антифосфолипидных антител было расширено за счет включения гетерогенной группы антител, которые специфичны по отношению к фосфолипид-связывающим белкам или их комплексу с фосфолипидами.

Среди фосфолипид-связывающих белков наиболее изучен β_2-гликопротеин I (β_2-GP1). Другой фосфолипид-связывающий белок протромбин (фактор II свертывания), обладает прокоагулянтной активностью через образование протромбиназного комплекса, который инициирует превращение фибриногена в фибрин.

Антитела могут ингибировать образование тромбокиназного комплекса.

Этот комплекс формируется связыванием протромбина с фосфолипидами на поврежденной ммбране, где протромбин затем энзиматически превращается в тромбин. Сам тромбин является причиной свертывания крови. Антитела, специфично направленные против факторов свертывания, например, антипротромбиновые антитела, это патогенные антитела, циркулирующие в кровяном русле, они непосредственно ингибируют факторы свертывания и таким образом удлиняют время коагуляции. Эти аутоантитела также ассоциированы с аутоиммунными заболеваниями.

Наличие аутоантител к протромбину связано с тромбозом у пациентов с СКВ и АФС. Было также найдено, что высокие уровни антител к протромбину связаны с риском глубокого тромбоза вен, легочной эмболии, и данные антитела могут быть вовлечены в развитие тромботических процессов. Кроме того, было показано, что повышение концентрации антител к протромбину является прогностическим фактором риска инфаркта миокарда.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокоочищенным протромбином. Антитела к этому антигену, присутствующие в разведенной сыворотке, связываются в лунках. При промывке ячеек удаляются все несвязавшиеся антитела. Пероксидаза хрена (HRP), конъюгированная с антителами к IgG или IgM человека иммунологически связывается с аутоантителами пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. При промывке ячеек удаляется весь несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации IgG и IgM антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. 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.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов и буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN3) является высоко токсичным веществом и реактивен в чистом виде. В концентрациях, присутствующих в наборе (0.09%), он не опасен.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Несмотря на лассификацию как не опасное вещество, рекомендуется соблюдать правила хорошей лабораторной практики (см. 8., 9., 10.).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, тщательно промывайте водопроводную систему большим количеством воды, для разведения ниже активного уровня.
8. При работе с образцами и реагентами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Соблюдайте руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенным протромбином. Готов для использования.	1
Комбинированные калибраторы с антителами к протромбину классов IgG и IgM в фосфатно-белковом матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) содержащие: 0, 6.3, 12.5, 25, 50, 100 Ед/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к протромбину в фосфатно-белковом матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) (положительный и отрицательный), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат (5x)***. Готов для использования.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgG-IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ
1. Храните набор при 2-8 °C.
2. Храните микропланшет запечетанным, в сухом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергайте реагенты нагреванию, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования.
5. Разведенный буфер для обраразцов и буфер для промывок стабильны в течений 30 дней при хранении при 2-8 °C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ
Оборудование
- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для обработки результатов

Приготовление реагентов
- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ
1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ
1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2. Не заменяйте компоненты набора реагентами из других лотов.
3. Все материалы должны достичь комнатной температуры (20-28 °C) перед тестированием.
4. Перед началом анализа подготовьте все реагнты и образцы. После начала процедуры анализа должны выполняться без остановок, для получения наиболее достоверных и точных результатов.
5. Выполняйте все шаги анализа только в полном соответствии с данной инструкцией.
6. Всегд используйте свежие разведения образцов.
7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8. Чтобы избежать перекрестной контаминации меняйте наконечники перед нанесением каждого образца и контроля.
9. Для достижения наиболее точных результатов очень важно тщательно промывать лунки микропланшета и удалить после промывки весь промывочный буфер из лунок.
10. Все инкубации должны проводиться строго в течение указанного времени.
11. Контрольные сыворотки или пулы должны тестироваться при каждой постановке, также, как и образцы, для проверки качества используемых реагентов и выполняемого анализа.
12. Не используйте лунки микропланшета повторно.
Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации, можно построить калибровочную кривую, для получения полуколичественных результатов для тестируемых образцов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей (К), калибраторов (С) и предварительно разбавленных проб пациентов (Р) в дублях.

2. Для определения одного класса антител добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов в ячейки.

Для определения обоих классов: IgG и IgM-антител пипетируйте калибраторы, контроли и образцы дважды.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20 - 28 °С).
4. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного раствора.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата (анти-IgA) в каждую ячейку.
6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты.

Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Контроль качества

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1), Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и F полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерений в дублях, и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные средние значения ОП стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах.

Примет расчетов

В таблице ниже приведены типичные результаты, полученные при анализе данным методом Anti-Protrombin IgG/IgM. Эти данные приведены только для иллюстации и не должны использоваться для расчета результатов какого-либо анализа.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Стандарты									
No	Позиция	ОП 1	ОП 2	Среднее	Конц. 1	Конц. 2	Среднее	декл. конц.	CV %
ST1	A1 / A2	0.038	0.039	0.038	0.001	0.001	0.001	0.001	2
ST2	B1 / B2	0.227	0.232	0.229	7.1	7.3	7.2	6.3	1
ST3	C1 / C2	0.388	0.395	0.391	12.6	12.8	12.7	12.5	1
ST4	D1 / D2	0.744	0.764	0.754	25.0	25.7	25.3	25	2
ST5	E1 / E2	1.336	1.306	1.321	49.0	47.7	48.3	50	1
ST6	F1 / F2	2.209	2.226	2.218	100.8	102.1	101.4	100	0

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При исследовании нормального диапазона значений антител к протромбину с использованием данного теста у здоровых доноров получены следующие значения:

	Антитела к протромбину [Ед/мл]
нормальный уровень	<10
повышенный уровень	≥10

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории устанавливать свои собственные нормальные и патологические диапазоны сывороточных антител к протромбину. Приведенные выше значения могут использоваться только в качестве ориентировочных.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

Сыворотки с высокой концентрацией антител к протромбину были разведены буфером для образцов и проанализированы. Результаты анализа были линейны во всем измеряемом диапазоне.

Воспроизводимость

Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Антипротромбин IgG		
Внутри серии		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	9.5	3.8
2	18.3	4.2
3	31.9	3.3

Антипротромбин IgM		
внутри серии		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	13.7	3.9
2	23.7	4.2
3	42.9	4.0

Антипротромбин IgG		
между сериями		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	10.4	9.3
2	19.0	5.2
3	34.1	6.0

Антипротромбин IgM		
между сериями		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	14.4	8.0
2	24.8	5.9
3	45.5	8.2

Чувствительность

Нижняя граница определения для антител к протромбину класса IgG и IgM – 1.0 Ед/мл.

Специфичность

Микропланшет покрыт высокоочищенными протромбином. Специальная технология нанесения антигенов в ячейки гарантирует нативную иммуногенную структуру протромбина после иммобилизации на твердой фазе. Данный набор специфичен для аутоантител к протромбину.

Калибровка

До тех пор, пока не появится международный референс-стандарт для антипротромбиновых антител, аналитическая система калибруется в относительных условных единицах.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Тест-система ORGENTEC Anti-Protrombin IgG/IgM может быть использована как часть диагностической процедуры, но сама по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

Интерференции

Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Vaarala O, Puurunen M, Manttari M, et al.
   Antibodies to prothrombin imply a risk of myocardial infarction in middle-aged men.
   Thromb Haemost, Mar 1996, 75(3) p456-9
2. Puurunen M, Vaarala O, Julkunen H, et al.
   Antibodies to phospholipid-binding plasma proteins and occurrence of thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus.
   Clin Immunol Immunopathol, Jul 1996, 80(1) p16-22
3. Palosuo T, Virtamo J, Haukka J, et al.
   High antibody levels to prothrombin imply a risk of deep venous thrombosis and pulmonary embolism in middle-aged men--a nested case-control study.
   Thromb Haemost, Oct 1997, 78(4) p1178-82
4. Bertolaccini ML, Atsumi T, Khamashta MA, et al.
   Autoantibodies to human prothrombin and clinical manifestations in 207 patients with systemic lupus erythematosus
   J Rheumatol, Jun 1998, 25(6) p1104-8
5. Sorice M, Pittoni V, Circella A, et al.
   Anti-prothrombin but not "pure" anti-cardiolipin antibodies are associated with the clinical features of the antiphospholipid antibody syndrome [letter]
   Thromb Haemost, Oct 1998, 80(4) p713-5
6. Galli M, Beretta G, Daldossi M, et al.
   Different anticoagulant and immunological properties of anti-prothrombin antibodies in patients with antiphospholipid antibodies.
   Thromb Haemost, Mar 1997, 77(3) p486-91
7. Sherer Y. et al
   Anti-Prothrombin antibodies in thrombosis and atherosclerosis

   Atherosclerosis and Autoimmunity 2001; 185-190

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Антитела к протромбину (IgG/IgM)

Добавить	Контроли
100 µл стандартов в микроячейки	**100 µл** контролей или проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**

Считать при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г. Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.comnostika GmbH

ORGENTEC

CE

541A_3

ORG 541A Anti-Prothrombin IgA

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Антипротромбиновый IgA - это тест-система ELISA для количественного измерения аутоантител класса IgA к протромбину в сыворотке или плазме крови человека. Этот продукт предназначен только для профессиональной in vitro диагностики.
Антифосфолипидный синдром (АФС, синдром Хьюза) - системное аутоиммунное заболевание, которое вызывает тромбозы, повторные выкидыши или мертворождения, а также инсульт. Клинические симптомы сопровождаются специфическими аутоантителами в крови, которые связываются с фосфолипидами, такими как кардиолипин, или фосфолипидсвязывающими белками, такими как бета-2-гликопротеин I. Аутоантитела против белков каскада свертывания крови, например протромбина или аннексина V, также могут быть обнаружены у пациентов с АФС с отрицательными результатами в отношении фосфолипидных антител. При первичном АФС аутоантитела против фосфолипидов появляются независимо, в то время как при вторичном АФС фосфолипидные антитела обнаруживаются в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как красная волчанка, ревматоидный артрит или синдром Шегрена.

SYMBOLS USED ON LABELS

IVD	Диагностическое медицинское изделие In vitro	MICROPLATE	Микропланшет
	Производитель	CALIBRATOR A	Калибратор
REF	Номер по каталогу	CALIBRATOR B	Калибратор
96	Достаточно для 96 определений	CALIBRATOR C	Калибратор
LOT	Код партии	CALIBRATOR D	Калибратор
	Использовать по	CALIBRATOR E	Калибратор
2°C 8°C	Ограничение температуры	CALIBRATOR F	Калибратор
	Хранить вдали от солнечного света	CONTROL +	Контроль положительный
	Не используйте повторно	CONTROL −	Контроль отрицательный
	Дата изготовления	DILUENT	Дилюент
CE	Маркировка CE в соответствии с 98/79/EC	CONJUGATE	Ферментный коньюгат
	Обратитесь к инструкции пользователя	TMB	TMB Субстрат
541A_3	Электронная инструкция: версия	STOP	Стоп-реагент
		WASH	Промывающий буфер
		RTU	Готов к использованию

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТА

Высокоочищенный протромбин абсорбированы на поверхности микропланшетных лунок.
Реакция основана на методе непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) со следующими стадиями: ферритин, присутствующий в образце пациента, связывается с абсорбированным антителом, образуя комплекс антиген-антитело. Промывка микропланшета удаляет несвязанные неспецифические компоненты сыворотки и плазмы. Во время инкубации с антиферритиновым фермент-конъюгатом иммунологически образуется комплекс конъюгат/антитело/антиген. Промывка микропланшета удаляет несвязанный конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связанного конъюгата гидролизуется с образованием синего окрашивания. Добавление кислоты останавливает реакцию с образованием желтого конечного продукта. Интенсивность этого желтого окрашивания измеряется фотометрически при 450 нм. Интенсивность окрашивания прямо пропорционально концентрации антител, присутствующих в исходном образце.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты из этого набора предназначены только для профессиональной диагностики in vitro.
- Компоненты, содержащие человеческую сыворотку, были протестированы и признаны отрицательными на HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2 методами, одобренными FDA. Ни один тест не может гарантировать отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 или HIV2, и поэтому со всеми реагентами на основе человеческой сыворотки в этом наборе следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию.
- Бычий сывороточный альбумин (BSA), используемый в компонентах, был протестирован на BSE и оказался отрицательным.
- Избегайте контакта с субстратом TMB (3,3,5,5-тетраметилбензидин).
- Стоп-реагент содержит кислоту, классификация неопасна. Избегайте контакта с кожей.
- Контроли, буфер для образцов и промывающий 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.

При обращении со всеми реагентами, контрольными образцами и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила лабораторной безопасности и надлежащую лабораторную практику:

- Меры первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и постирайте перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте ее водой. После попадания в глаза тщательно промойте открытый глаз проточной водой в течение не менее 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
- Меры предосторожности, средства защиты и аварийные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте. Не пипетируйте через рот. Не ешьте, не пейте, не курите и не наносите косметику в местах, где обрабатываются образцы или наборы реагентов. Пролитый материал протрите инертным материалом и поместите пролитый материал в соответствующее место для утилизации отходов.

- Контроль воздействия / личная защита: Наденьте защитные перчатки из нитрилового каучука или натурального латекса.

Наденьте защитные очки. Используется по назначению, никаких опасных реакций не известно.

- Условия, которых следует избегать: Поскольку раствор субстрата чувствителен к свету, хранить в темном месте.
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте рекомендации по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контрольных сывороток.

СОДЕРЖИМОЕ КОМПЛЕКТА

ORG 541A	Σ 96	Достаточно для 96 исследований
MICROPLATE	1	Один делимый микропланшет, состоящая из 12 модулей по 8 лунок каждый. Готов к использованию. Код продукта на модуле: ***PTR***
CALIBRATOR A	1x 1.5 ml	Калибратор A 0 Ед/мл, содержащий сыворотку/буферную матрицу (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR B	1x 1.5 ml	Калибратор B 6,3 Ед/мл, содержащий антитела к протромбину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR C	1x 1.5 ml	Калибратор C 12,5 Ед/мл, содержащий антитела к протромбину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, моющее средство, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR D	1x 1.5 ml	Калибратор D 25 Ед/мл, содержащий антитела к протромбину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR E	1x 1.5 ml	Калибратор E 50 Ед/мл, содержащий антитела к протромбину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CALIBRATOR F	1x 1.5 ml	Калибратор F 100 Ед/мл, содержащий антитела к протромбину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию.
CONTROL +	1x 1.5 мл	Контроль положительный, содержащего антитела к протромбину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтого цвета. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL −	1x 1.5 ml	Контроль отрицательный, содержащий антитела к протромбину в сыворотке/буферной матрице (PBS, BSA, детергент, NaN3 0,09%), желтый. Готов к использованию. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 ml	Буфер P, содержащий PBS, BSA, детергент, консервант азид натрия 0,09%, желтый, концентрат (5 x).
CONJUGATE	15 ml	Конъюгат фермента; светло-красный, содержащий античеловеческие IgA-антитела, маркированный HRP; PBS, BSA, детергент, консервант ПРОКЛИН 0,05%. Готов к использованию.
TMB	15 ml	TMB Субстрат; содержащий 3,3', 5,5'- тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 ml	Стоп-реагент; содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 ml	Промывающий буфер, содержит Трис, детергент, консервант азид натрия 0,09%; 50 x конц.
	1	Сертификат анализа

MATERIALS REQUIRED

- Считыватель микропланшетов с возможностью измерения конечных точек при 450 нм; дополнительно: эталонный фильтр при 620 нм
- Программное обеспечение для обработки данных
- Многоканальный дозатор или повторяемая пипетка на 100 мкл
- Вихревой миксер (Вортекс)
- Пипетки на 10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл
- Устройство лабораторное контроля времени
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерный цилиндр на 1000 мл и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения моющего раствора

Этот набор ИФА подходит для использования на открытых автоматизированных системах ELISA. Каждый набор должен быть испытан на соответствующей автоматизированной системе. Подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР, ХРАНЕНИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Соберите образцы цельной крови, используя приемлемые медицинские методы, чтобы избежать гемолиза.
- Дайте крови свернуться и отделите сыворотку или плазму центрифугированием.
- Тестируемая сыворотка должна быть прозрачной и не подвергаться гемолизу. Следует избегать загрязнения в результате гемолиза или липемии, но это не мешает проведению данного анализа.
- Образцы могут храниться в холодильнике при температуре 2-8°C до пяти дней или при температуре -20°C до шести месяцев.
- Избегайте многократного замораживания и размораживания образцов сыворотки или плазмы. Это может привести к переменной потере активности антител.
- Тестирование сывороток, инактивированных при нагревании, не рекомендуется.

ПРОЦЕДУРНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- • Не используйте компоненты комплекта после истечения срока их годности.
- Не меняйте местами компоненты комплекта из разных партий и продуктов.
- Перед использованием все материалы должны быть комнатной температуры (20-28°C).
- Подготовьте все реагенты и образцы. После запуска выполняйте тест без перерыва.
- Могут быть сделаны двойные определения. Таким образом, ошибки при пипетировании могут стать очевидными.
- Выполняйте этапы анализа только в указанном порядке.
- Всегда используйте свежие разведения образцов.
- Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
- Чтобы избежать переноса или загрязнения, меняйте наконечник пипетки между образцами и различными реагентами набора.
- Тщательно промойте микропланшет и удалите последние капли промывочного буфера.
- Все этапы инкубации должны быть точно рассчитаны по времени.
- Не используйте повторно лунки микропланшетов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разбавьте содержимое одного флакона концентрата буферного промывочного раствора (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

DILUENT

Буфер для образцов STP готов к использованию.

Подготовка образцов

Используйте неразбавленный образец пациента. Примечание: Калибраторы / Контроли готовы к использованию и не нуждаются в разбавлении.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРОЦЕДУРА ИСПЫТАНИЯ

Подготовьте достаточное количество стрипов микропланшета для всех калибраторов/контролей и образцов пациентов.

1. Пипетируйте в лунки 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов пациентов.
   Инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (20-28°C).
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочного раствора.
2. Пипетируйте по 100 мкл ферментного конъюгата в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре.
   Отберите содержимое микропланшета и промойте 3 раза 300 мкл промывочным раствором.
3. Пипетируйте по 100 мкл раствора субстрата TMB в каждую лунку.
   Инкубировать в течение 15 минут при комнатной температуре
4. 4. Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку стрипов и инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре.

Проведите измерение оптической плотности при 450 нм (референсный 600-690 нм) и рассчитайте результаты. Проявленное окрашивание остается стабильным не менее 30 минут. Проведите измерение в течение этого времени.

Пример схемы пипетирования:

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

P1, ... Проба пациента A-F Калибраторы C+, C- Контроли

ВАЛИДАЦИЯ

Результаты испытаний действительны, если оптическая плотность калибраторов / контролей при 450 нм и результаты контроля соответствуют эталонным диапазонам, указанным в сертификате анализа, прилагаемом к каждому тестовому комплекту.
Если эти критерии контроля качества не выполнены, проведение анализа недействительно и должно быть повторно проведено.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для получения количественных результатов постройте график зависимости оптической плотности каждого калибратора от концентрации калибратора, чтобы создать калибровочную кривую. Затем концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции. Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации, используемая программным обеспечением.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Калибровка

Эта система анализа откалибрована в условных единицах, поскольку для этого анализа не существует международного эталонного препарата.

Диапазон измерения

Диапазон вычислений этого анализа ELISA составляет 0 - 100 U/ml

Ожидаемые значения

В исследовании нормального диапазона с образцами от здоровых доноров крови с помощью этого анализа ELISA были установлены следующие диапазоны: Cut-off 10 U/ml

Интерпретация результатов

Отрицательный: < 10 U/ml
Положительный: ≥ 10 U/ml

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Линейность

Образцы пациентов, содержащие высокие уровни специфических антител, последовательно разводили в буфере для образцов, чтобы продемонстрировать динамический диапазон анализа и верхний/нижний предел линейности. Активность для каждого разведения рассчитывали по калибровочной кривой с использованием 4-параметрического прогона с линейно-логарифмическими координатами.

Проба	Разведение	Наблюдаемый U/ml	Ожидаемый U/ml	H/O [%]
1	1:100	92.1	92.1	100
.	1:200	46.3	46.1	100
.	1:400	22.5	23.0	98
.	1:800	11.1	11.5	97
.	1:1600	5.0	5.8	86
2	1:100	70.9	70.9	100
.	1:200	35.0	35.5	99
.	1:400	17.9	17.7	101
.	1:800	8.5	8.9	96
.	1:1600	4.1	4.4	93

Предел обнаружения

Функциональная чувствительность была определена как: 1 U/ml

Воспроизводимость

Точность внутри серии анализа: Коэффициент вариации (CV) рассчитывали для каждого из трех образцов по результатам 24 определений за один прогон. Результаты анализа с точностью до погрешности приведены в таблице ниже.
Точность между сериями анализа: Коэффициент вариации (CV) был рассчитан для каждого из трех образцов по результатам 6 определений в 5 различных циклах. Результаты по точности от запуска к запуску приведены в таблице ниже.

Внутри серии анализ		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	16.9	6.6
2	31.3	3.8
3	58.7	3.8

Анализ между сериями		
Проба	Значение U/ml	CV %
1	16.8	6.9
2	32.8	4.2
3	55.5	8.6

Интерференция

Не наблюдалось никакой интерференции с гемолитическими (до 1000 мг/дл) или липемическими (до 3 г/дл триглицеридов) сыворотками и плазмой или сыворотками и плазмой, содержащими билирубин (до 40 мг/дл). Также не наблюдалось никаких мешающих эффектов при применении антикоагулянтов (Цитрат, ЭДТА, гепарин). Однако по практическим соображениям рекомендуется избегать сильно гемолизированных или липемизированных образцов.

Результаты исследования

Исследуемая популяция	n	n Поз	%
Антифосфолипидный синдром (АФС)	60	15	25.0
Нормальные сыворотки человека	150	1	0.7

		Клинический диагноз	
		Поз	Нег
ORG 541A	Поз	15	1
	Нег	45	149
		60	150

210

Чувствительность: 25.0 %
Специфичность: 99.3 %
Общая достоверность: 78.1 %

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Этот анализ является вспомогательным средством диагностики. Определенный клинический диагноз не должен основываться на результатах одного теста, а должен быть поставлен врачом после оценки всех клинических и лабораторных результатов, касающихся всей клинической картины пациента. Кроме того, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Приведенные выше патологические и нормальные референтные диапазоны для антител в образцах пациентов следует рассматривать только как рекомендации. Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189 или другими применимыми лабораторными руководящими принципами.

ИСТОЧНИКИ

1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2)Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011; 20(2):191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4):192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Favaloro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, Ioannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lond 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3):129-33.
16. Lakos G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tripodi A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anti-cardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.

Уведомление для пользователя (Европейский союз):

О любом серьезном инциденте, произошедшем с компонентами комплекта, следует сообщать производителю и компетентному органу государства - члена ЕС, в котором находится пользователь и/или пациент.

Изменен контроль

Прежняя версия: ORG 541A_IFU_EN_QM113178_2013-12-16_1.2 Причина пересмотра: Введение электронного IFU на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. Pipet **100 µl** calibrator, control or patient sample
   → Incubate for **30 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
2. Pipet **100 µl** enzyme conjugate
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
   → Discard the contents of the wells and wash 3 times with **300 µl** wash solution
3. Pipet **100 µl** substrate solution
   → Incubate for **15 minutes** at room temperature
4. Add **100 µl** stop solution
   → Leave untouched for **5 minutes**
   → Read at **450 nm**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-Prothrombin Screen

96 тестов

Кат. № ORG 541S

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный метод Anti-Protrombin Screen предназначен для количественного определения IgG, IgM и IgA аутоантител к протромбину в человеческой сыворотке или плазме методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Набор предназначен только для диагностики in vitro с целью диагностики риска возникновения тромбозов у пациентов, страдающих системной красной волчанкой или волчаночными заболеваниями.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Антифосфолипидные антитела ассоциируются с венозными и артериальными тромбозами, а также с хроническим невынашиванием беременности. У пациентов с подобной симптоматикой и высокими уровнями антител к фосфолипидам диагностируют антифосфолипидный синдром (АФС). АФС может проявляться у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) или другими аутоиммунными заболеваниями (вторичный АФС), или у пациентов без предшествующих аутоиммунных процессов (вторичный АФС).

В клинической практике иммуноферментное определение антител к кардиолипину является одним из наиболее ценных и стандартизированных тестов для диагностики АФС.

Недавно семейство антифосфолипидных антител было расширено за счет включения гетерогенной группы антител, которые специфичны по отношению к фосфолипид-связывающим белкам или их комплексу с фосфолипидами.

Среди фосфолипид-связывающих белков наиболее изучен β_2-гликопротеин I (β_2-GP1). Другой фосфолипид-связывающий белок протромбин (фактор II свертывания), обладает прокоагулянтной активностью через образование протромбиназного комплекса, который инициирует превращение фибриногена в фибрин.

Антитела могут ингибировать образование тромбокиназного комплекса. Этот комплекс формируется связыванием протромбина с фосфолипидами на поврежденной ммбране, где протромбин затем энзиматически превращается в тромбин.

Сам тромбин является причиной свертывания крови. Антитела, специфично направленные против факторов свертывания, например, антипротромбиновые антитела, это патогенные антитела, циркулирующие в кровяном русле, они непосредственно ингибируют факторы свертывания и таким образом удлиняют время коагуляции. Эти аутоантитела также ассоциированы с аутоиммунными заболеваниями.

Наличие аутоантител к протромбину связано с тромбозом у пациентов с СКВ и АФС. Было также найдено, что высокие уровни антител к протромбину связаны с риском глубокого тромбоза вен, легочной эмболии, и данные антитела могут быть вовлечены в развитие тромботических процессов. Кроме того, было показано, что повышение концентрации антител к протромбину является прогностическим фактором риска инфаркта миокарда.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Настоящий набор использует принцип непрямого твердофазного ИФА - ELISA. Он разработан для количественного определения аутоантител классов классов G, M и A к протромбину. Ячейки планшета покрыты высокоочищенным протромбином.

Планшет может быть разделен на 12 стрипов по 8 ячеек каждый или может быть использован сразу для 96 определений. Каждая ячейка может быть отделена от стрипа (“break-away”).

В ходе анализа происходят связывание присутствующих аутоантител, образование сэндвичевого комплекса и ферментная цветная реакция в следующих фазах реакции:

Фаза 1:

Калибраторы, контроли и предварительно разбавленные пробы сыворотки пациентов вносятся в микроячейки. Любые присутствующие антитела связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. После 30-минутной инкубации ячейки промываются, при этом промывочный раствор удаляет несвязавшиеся компоненты сыворотки.

Фаза 2:

Смешанный раствор коньюгатов античеловеческого анти-IgG, анти-IgA и анти-IgM с пероксидазой хрена добавляется в ячейки для определения аутоантител, связанных с иммобилизованными антигенами. После 15-минутной инкубации избыток ферментного коньюгата удаляется промывочным раствором.

Фаза 3:

Раствор хромогенного субстрата, содержащий ТМБ, добавляется в ячейки. В течение 15-минутной инкубации цвет раствора становится голубым. Развитие окраски останавливается добавлением 1М соляной кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый.

Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG /IgM/IgA-антител в образце.

Необходимо считать оптическую плотность при 450 нм. Рекомендуется бихроматический режим с фильтром сравнения 600 - 690 нм.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. Однако ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Следовательно, с реагентами и образцами крови следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов и буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN3) является высоко токсичным веществом и реактивен в чистом виде. В концентрациях, присутствующих в наборе (0.09%), он не опасен. Несмотря на лассификацию как не опасное вещество, рекомендуется соблюдать правила хорошей лабораторной практики (см. 8., 9., 10.).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, тщательно промывайте водопроводную систему большим количеством воды, для разведения ниже активного уровня.
8. При работе с образцами и реагентами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Соблюдайте руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенным протромбином. Готов для использования.	1
Комбинированные калибраторы с антителами к протромбину классов IgG, IgM и IgA в фосфатно-белковом матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) содержащие: 0, 6.3, 12.5, 25, 50, 100 Ед/мл. Готовы для использования.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к протромбину в фосфатно-белковом матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)) (положительный и отрицательный), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы для использования.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат***. Готов для использования.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)) (светло-красный), содержащий смесь поликлональных кроличьх античеловеческих IgG-IgG, IgM-IgG и IgA-IgG антитела, меченых пероксидазой хрена. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Храните набор при 2-8 °C.
2. Храните микропланшет запечетанным, в сухом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергайте реагенты нагреванию, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования.
5. Разведенный буфер для обраразцов и буфер для промывок стабильны в течений 30 дней при хранении при 2-8 °C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для обработки результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2. Не заменяйте компоненты набора реагентами из других лотов.
3. Все материалы должны достичь комнатной температуры (20-28 °C) перед тестированием.
4. Перед началом анализа подготовьте все реагнты и образцы. После начала процедуры анализа должны выполняться без остановок, для получения наиболее достоверных и точных результатов.
5. Выполняйте все шаги анализа только в полном соответствии с данной инструкцией.
6. Всегд используйте свежие разведения образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
8. Чтобы избежать перекрестной контаминации меняйте наконечники перед нанесением каждого образца и контроля.
9. Для достижения наиболее точных результатов очень важно тщательно промывать лунки микропланшета и удалить после промывки весь промывочный буфер из лунок.
10. Все инкубации должны проводиться строго в течение указанного времени.
11. Контрольные сыворотки или пулы должны тестироваться при каждой постановке, также, как и образцы, для проверки качества используемых реагентов и выполняемого анализа.
12. Не используйте лунки микропланшета повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации, можно построить калибровочную кривую, для получения полуколичественных результатов для тестируемых образцов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей (К), калибраторов (С) и предварительно разбавленных проб пациентов (Р) в дублях.

2. Для определения одного класса антител добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов в ячейки.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20 - 28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата (анти-IgA) в каждую ячейку.

6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и **трижды** промойте **300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты.

Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1), Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и F полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерений в дублях, и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные средние значения ОП стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах.

Примет расчетов

В таблице ниже приведены типичные результаты, полученные при анализе данным методом Anti-Protrombin IgG/IgM. Эти данные приведены только для иллюстации и не должны использоваться для расчета результатов какого-либо анализа.

Стандарты									
No	Позиция	ОП 1	ОП 2	Среднее	Конц. 1	Конц. 2	Среднее	декл. конц.	CV %
ST1	A1 / B1	0.124	0.109	0.116	0.6	0.5	0.6	0	9.1
ST2	C1 / D1	0.199	0.207	0.203	6.0	6.4	6.2	6.3	2.8
ST3	E1 / F1	0.325	0.343	0.334	12.2	13.0	12.6	12.5	3.8
ST4	G1 / H1	0.603	0.649	0.626	23.7	25.6	24.6	25	5.2
ST5	A2 / B2	1.300	1.210	1.255	52.5	48.5	50.5	50	5.1
ST6	C2 / D2	2.124	2.178	2.151	97.7	101.5	99.6	100	1.8

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При исследовании нормального диапазона значений антител к протромбину с использованием данного теста у здоровых доноров получены следующие значения:

	Антитела к протромбину [Ед/мл]
Cut - off	20

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории устанавливать свои собственные нормальные и патологические диапазоны сывороточных антител к протромбину. Приведенные выше значения могут использоваться только в качестве ориентировочных.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

Сыворотки с высокой концентрацией антител к протромбину были разведены буфером для образцов и проанализированы. Результаты анализа были линейны во всем измеряемом диапазоне.

Воспроизводимость

Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Антипротромбин Скрин Внутри серии		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	16.5	6.0
2	32.8	2.2
3	64.0	3.2

Антипротромбин Скрин внутри серии		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	17.2	9.4
2	32.9	2.0
3	63.9	3.8

Чувствительность

Нижняя граница определения для антител к протромбину класса IgG и IgM – 1.0 Ед/мл.

Специфичность

Микропланшет покрыт высокоочищенными протромбином. Специальная технология нанесения антигенов в ячейки гарантирует нативную иммуногенную структуру протромбина после иммобилизации на твердой фазе. Данный набор специфичен для аутоантител к протромбину.

Калибровка

До тех пор, пока не появится международный референс-стандарт для антипротромбиновых антител, аналитическая система калибруется в относительных условных единицах.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Тест-система ORGENTEC Anti-Protrombin IgG/IgM может быть использована как часть диагностической процедуры, но сама по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

Интерференции

Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Vaarala O, Puurunen M, Manttari M, et al.
   Antibodies to prothrombin imply a risk of myocardial infarction in middle-aged men.
   Thromb Haemost, Mar 1996, 75(3) p456-9
2. Puurunen M, Vaarala O, Julkunen H, et al.
   Antibodies to phospholipid-binding plasma proteins and occurrence of thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus.
   Clin Immunol Immunopathol, Jul 1996, 80(1) p16-22
3. Palosuo T, Virtamo J, Haukka J, et al.
   High antibody levels to prothrombin imply a risk of deep venous thrombosis and pulmonary embolism in middle-aged men--a nested case-control study.
   Thromb Haemost, Oct 1997, 78(4) p1178-82
4. Bertolaccini ML, Atsumi T, Khamashta MA, et al.
   Autoantibodies to human prothrombin and clinical manifestations in 207 patients with systemic lupus erythematosus
   J Rheumatol, Jun 1998, 25(6) p1104-8
5. Sorice M, Pittoni V, Circella A, et al.
   Anti-prothrombin but not "pure" anti-cardiolipin antibodies are associated with the clinical features of the antiphospholipid antibody syndrome [letter]
   Thromb Haemost, Oct 1998, 80(4) p713-5
6. Galli M, Beretta G, Daldossi M, et al.
   Different anticoagulant and immunological properties of anti-prothrombin antibodies in patients with antiphospholipid antibodies.
   Thromb Haemost, Mar 1997, 77(3) p486-91
7. Sherer Y. et al
   Anti-Prothrombin antibodies in thrombosis and atherosclerosis

   Atherosclerosis and Autoimmunity 2001; 185-190

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Антитела к протромбину (IgG/IgM)

Добавить	Контроли
100 µл стандартов в микроячейки	**100 µл** контролей или проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**

Считать при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-Annexin V IgG и IgM

96 тестов

Кат. № ORG 643

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского оригинала. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANTI-ANNEXIN V предназначен для количественного определения аутоантител классов G и M к аннексину V в сыворотке или плазме человека. Этот метод предназначен для диагностики *in vitro* риска тромбоза и привычной потери плода.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Аутоиммунные антитела к антифосфолипид-связанным белкам ассоциированы с рядом тромбоэмболических осложнений, как артериальных, так и венозных, включая привычную потерю плода и тромбоцитопению (3). Патологические механизмы антифосфолипидного синдрома (АФЛ) ещё полностью не выяснены (10).
Аннексин V, также известный как плацентарный антикоагулянтный протеин (PAP I) (8), не только принадлежит семейству кальций-зависимых белков, связывающих фосфолипиды (5), но также является возможным сосудистым антикоагулянтным протеином (9).
Аннексин V необходим для поддержания плацентарной целостности (8) и может оказывать тромборегуляторный эффект в материнско-фетальном взаимодействии, как показано в модели на мышах (14).

Предполагают, что связывание антител к аннексину V с мембраной, покрытой аннексином V в ворсинках плаценты приводит к экспозиции на мембране анионных прокоагулянтных фосфолипидов. Анионные прокоагулянтные фосфолипиды, как известно, усиливают процессы коагуляции крови в плацентарных сосудах, и могут быть важным провоцирующим фактором тромбоза и привычной потери плода при АФЛ (9).

Антитела к аннексину V не только высоко специфичны для АФЛ, но также повышены у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) (4, 6).
Считают, что антитела к аннексину V имеют значение в развитии ревматоидного артрита (2, 11).
У пациентов с положительным результатом на наличие антител к аннексину V найдена очень высокая частота артериального или венозного тромбоза (12).
При наличии этих антител очень высок риск привычного выкидыша у пациенток с СКВ (7).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокоочищенным человеческим рекомбинантным аннексином V. Антитела к этим антигенам, присутствующие в разведенной сыворотке, связываются в лунках. При промывке ячеек удаляются все несвязавшиеся антитела. Пероксидаза хрена (HRP), конъюгированная с антителами к IgG и IgM человека иммунологически связывается с аутоантителами пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. При промывке ячеек удаляется весь несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием голубого окрашивания. Развитие окраски останавливается добавлением раствора фосфорной кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность этого желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации IgG и IgM антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту B 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых человеческим аннексином. Готов к использованию.	1
Комбинированные калибраторы с антителами к аннексину классов IgG и IgM в сывороточно/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие: IgG и IgM: 0; 6.3; 12;5 25; 50, 100 Ед/мл. Готовы к использованию.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к аннексину в сывороточно/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)) Контроль 1: положительный на IgG-антитела Контроль 2: положительный на IgM-антитела Контроль 3: отрицательный на IgG- и IgM-антитела. Готовы к использованию.	3 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3‹0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат (5x)***.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, PROCLIN 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию. Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, PROCLIN 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgM антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл 1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (фосфатно-солевой буфер, NaN3‹0,1%(w/w)), ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 μл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера
- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Соберите образец цельной крови стандартной венопункцией, избегая гемолиза.

1 Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием
2 Избегайте гемолиза, липемии или микробиологического загрязнения сыворотки
3 Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.
4 Для предотвращения повторных циклов замораживания-оттаивания (это может привести к потере активности антител) следует приготовить аликвоты образцов.
5 Все пробы сыворотки и плазмы должны быть разбавлены 1:100 буфером для образцов. Следовательно, 10 мкл образца могут быть разбавлены 1000 мкл буфера.
6 Использование для анализа инактивированной нагреванием сыворотки не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28^{o}C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре (18-28 °С).

4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного и положительного контролей согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов

Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации и log-log координаты.

Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага.

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе при определении антител класса IgG и IgM к аннексину V. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Стандарты (С)									
No	Лунка	ОП 1	ОП 2	Среднее	Конц 1 яч.	Конц 2 яч.	Среднее	Заявл. Конц.	CV %
STA	A 1/B 1	0,076	0,074	0,075	0,09	0,09	0,09	0,0	1,9
STB	C 1/D 1	0,286	0,288	0,287	5,5	5,6	5,6	6,3	0,5
STC	E 1/F 1	0,610	0,629	0,620	12,0	12,4	12,2	12,5	2,1
STD	G 1/H 1	1,199	1,223	1,211	25,8	26,5	26,2	25,0	1,4
STE	A 2/B 2	1,803	1,743	1,773	49,3	46,2	47,7	50,0	2,4
STF	C 2/D 2	2,381	2,318	2,350	109,8	98,0	103,9	100,0	1,9

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При исследовании нормального диапазона значений антител к аннексину V с использованием данного теста у здоровых доноров получены следующие значения:

	Антитела к аннексину V IgG и IgM [Ед/мл]
Нормальный уровень	< 5
Повышенный уровень	5 - 8
Положитель-ный	≥ 8

Положительный результат исследования должен подтверждаться данными клинического обследования пациента, каждое решение о терапии должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории устанавливать свои собственные нормальные и патологические диапазоны сывороточных антител к аннексину V. Приведенные выше значения могут использоваться только в качестве ориентировочных.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы. Анализ был линеен во всем диапазоне измерения.

Воспроизводимость
Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 6 различных опытов по 8 определений каждого образца:

Анти-аннексин V **Внутри серии**		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	11	6,7
2	27	3,8
3	67	4,2

Анти-аннексин V **Между сериями**		
Обра-зец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	9	4,1
2	23	4,2
3	64	5,7

Чувствительность
Нижняя граница определения для антител к аннексину классов IgG и IgM – 1,0 Ед/мл.

Специфичность
Микропланшет покрыт высокоочищенными человеческим рекомбинантным аннексином V. Специальная технология нанесения антигенов в ячейки гарантирует нативную иммуногенную структуру аннексина V после иммобилизации на твердой фазе. Данный набор специфичен для аутоантител к аннексину V.

Калибровка
До тех пор, пока не появится международный референс-стандарт для антител к аннексину, аналитическая система калибруется в относительных условных единицах.

Ограничения метода
Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Интерференции
Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Arnoux D, Boutiere B, Sanmarco M. [Antiphospholipid antibodies: clinical significance and biological diagnosis] Ann Biol Clin (Paris). 2000 Sep-Oct;58(5):557-74.
2. Dubois T, Bisagni-Faure A, Coste J, Mavoungou E, Menkes CJ, Russo-Marie F, Rothhut B. High levels of antibodies to annexins V and VI in patients with rheumatoid arthritis. J Rheumatol. 1995 Jul;22(7):1230-4.
3. Greaves M. Antiphospholipid syndrome: state of the art with emphasis on laboratory evaluation. Haemostasis. 2000;30 Suppl 2:16-25.
4. Kaburaki J, Kuwana M, Yamamoto M, Kawai S, Ikeda Y. Clinical significance of anti-annexin V antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. Am J Hematol. 1997 Mar;54(3):209-13.
5. Kraus M, Romisch J, Bastian B, Paques EP, Hartmann AA. Detection of human anti-annexin autoantibodies by enzyme immunoassays. J Immunoassay. 1992;13(3):411-39.
6. Lakos G, Kiss E, Regeczy N, Tarjan P, Soltesz P, Zeher M, Bodolay E, Szucs G, Szakony S, Sipka S, Szegedi G. Antiprothrombin and antiannexin V antibodies imply risk of thrombosis in patients with systemic autoimmune diseases. J Rheumatol. 2000 Apr;27(4):924-9.
7. Nojima J, Kuratsune H, Suehisa E, Futsukaichi Y, Yamanishi H, Machii T, Iwatani Y, Kanakura Y. Association between the prevalence of antibodies to beta(2)-glycoprotein I, prothrombin, protein C, protein S, and annexin V in patients with systemic lupus erythematosus and thrombotic and thrombocytopenic complications. Clin Chem. 2001 Jun;47(6):1008-15.
   Pierangeli SS, Dean J, Goldsmith GH, Branch DW, Gharavi A, Harris EN. Studies on the interaction of placental anticoagulant protein I, beta 2 glycoprotein 1, and antiphospholipid antibodies in the prothrombinase reaction and in the solid phase anticardiolipin assays. J Lab Clin Med. 1996 Aug;128(2):194-201.
8. Rand JH, Wu XX, Andree HA, Lockwood CJ, Guller S, Scher J, Harpel PC. Pregnancy loss in the antiphospholipid-antibody syndrome--a possible thrombogenic mechanism. N Engl J Med. 1997 Jul 17;337(3):154-60.
9. Rand JH. The pathogenic role of annexin-v in the antiphospholipid syndrome. Curr Rheumatol Rep. 2000 Jun;2(3):246-51.
10. Rodriguez-Garcia MI, Fernandez JA, Rodriguez A, Fernandez MP, Gutierrez C, Torre-Alonso JC. Annexin V autoantibodies in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 1996 Dec;55(12):895-900.
11. Satoh A, Suzuki K, Takayama E, Kojima K, Hidaka T, Kawakami M, Matsumoto I, Ohsuzu F. Detection of anti-annexin IV and V antibodies in patients with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus. J Rheumatol. 1999 Aug;26(8):1715-20.
12. Triplett DA. Lupus anticoagulants/antiphospholipid-protein antibodies: the great imposters.
    Lupus. 1996 Oct;5(5):431-5.
13. Wang X, Campos B, Kaetzel MA, Dedman JR. Annexin V is critical in the maintenance of murine placental integrity. Am J Obstet Gynecol. 1999 Apr;180(4):1008-16.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Добавить **100 µл** стандартов в микроячейки	Контроли **100 µл** контролей или проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут** и Считать при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ORGENTEC

Anti-TG, Anti-TPO

96 тестов

Кат. Номера ORG 502, 503

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и на английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор Anti-TG/TPO предназначен для количественного определения IgG аутоантител к тиреоглобулину и тиреоидной пероксидазе в сыворотке или плазме человека методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Набор предназначен только для диагностики *in vitro,* и может быть использован при диагностике тиреоидита Хашимото.

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания щитовидной железы являются наиболее распространенными среди всех аутоиммунных заболеваний. Тиреоидные аутоиммунные заболевания связаны с появлением различных аутоантител и, видимо, могут быть связаны с генетической предрасположенностью. Эти аутоантитела направлены против локализованных на мембранах и/или экстрацеллюлярныхных антигенов тиреоидных клеток:

-Тиреоглобулин (ТГ) - водно-растворимый гликопротеин с молекулярной массой приблизительно 660 кД, составляющий основную массу тиреоидного коллоида (около 75% его массы). Синтез тиреоидных гормонов Т3 и Т4 основан на окислительном йодировании остатков тирозина в молекуле тиреоглобулина. Внутрь клетки тиреоглобулин транспортируется в микросомах. Одновременно с секрецией Т3 и Т4 в циркуляцию поступают также небольшие количества ТГ.

-Микросомальный антиген тиреоидной клетки является интегральным мембранным белком микросом. Этот антиген был охарактеризован как фермент **Тиреоидная пероксидаза (ТПО)** с молекулярным весом около 110 кД. **ТТГ-Рецептор** является регуляторным белком, интегрированным в мембране тиреоидной клетки, влияющий как на синтез и секрецию тиреоидных гормонов так и на клеточный рост.

-Так называемый коллоидный антиген 2 **КА2**.

Кроме этих антител к функциональным антигенам, антитела направлены против циркулирующих тиреоидных гормонов Т3 и Т4. У пациентов с болезнью Грейвса иммуногенетическая форма гипертиреоидизма часто связана с появлением дополнительных антител, направленных против антигенов мышц глаза. Они являются причиной эндокринной офтальмопатии.

Аутоантитела обнаруживаются при воспалительных заболеваниях щитовидной железы аутоиммунной природы. Различные симптомы заболеваний щитовидной железы: зоб, болевой синдром щитовидной железы, гипертиреоидизм и гипотиреоидизм могут иметь место при иммуногенетическом процессе и в случае появления органспецифических антител. Это подчеркивает клиническую значимость определения аутоантител для оценки тиреоидных заболеваний.

Наиболее важными аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы являются: болезнь Хашимото, первичная микседема, болезнь Грейвса (часто связана с эндокринной офтальмопатией и другими бессимптомными заболеваниями, например, послеродовыми тиреоидитами.

Появление анти-ТГ и анти-ТПО аутоантител одновременно, по-видимому, связано с их функциональной ассоциацией. Остатки тирозина в молекуле тиреоглобулина как белка-предшественника тиреоидных гормонов Т3 и Т4 йодируются при участии тиреоидной пероксидазы (ТПО). ТТГ стимулирует синтез и секрецию тиреоидных гормонов в тесной кооперации с другими белками. Это обстоятельство делает возможным одновременное появление всех этих антител.

Ингибирование пероксидазной активности специфическими аутоантителами (анти-ТПО) снижает синтез тиреоидных гормонов и, таким образом, приводит к гипотиреоидизму. Особенно в конце беременности определение тиреоидных антител может быть полезным диагностическим тестом в ранней диагностике гипотиреоидизма, возникающего после рождения ребенка (послеродовая болезнь Хашимото).

Наиболее высокие титры тиреоидных аутоантител найдены у пациентов с болезнью Хашимото. Концентрация антител к тиреоглобулину при этой болезни превышает титр анти-ТПО антител, в то время как у пациентов с болезнью Грейвса обнаруживается высокий уровень анти-ТПО антител. Кроме этого, для этих заболеваний характерны высокие концентрации антител к рецептору ТТГ.

В таблице приводятся данные по распределению аутоантител при тиреоидных аутоиммунных заболеваниях.

Заболевания (основные)	**анти-ТПО**	**анти -ТГ**	**анти-ТТГ-рецептор**
Болезнь Хашимото	xxx	xxx	x
Болезнь Грейвса (иммуногенная)	xx	x	xxx
Эндокринная орбитопатия	x	x	xx
Многоузловой зоб (не иммуногенный)	x	(x)	-
Тиротоксическая аденома	x	(x)	-

Определение специфических тиреоидных аутоантител используется в диагностике следующих заболеваний:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

-Болезнь Грейвса (иммуногенная) -Тиреоидит Хашимото
-Эндокринная орбитопатия -Многоузловой зоб
гипер-гипотиреоидизм неустановленного генеза
послеродовые тиреоидиты

ПРИНЦИП МЕТОДА

Анализ проводится в микропланшете, в лунках которого сорбированы высокоочищенные человеческие тиреоглобулин и тиреоидная пероксидаза. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены только для диагностики *in vitro.*
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg и ВИЧ. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`- тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим соляную кислоту (1М). Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN_3) – это вещество, токсичное и активное в чистом виде. Однако концентрации, содержащиеся в поставляемых реагентах, не представляют опасности. Несмотря на то, что они считаются не опасными, производитель рекомендует соблюдать соответствующие предосторожности при работе с реагентами (см. п.п. 8, 9, 10)
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 а в качестве консерванта. При утидизации реагентов, содержащих Proclin 300, промывайте водопроводную систему большим количеством воды, чтобы развети компоненты ниже активных уровней.
8. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9. Не пипетируйте ртом.
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить.
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высоко очищенными человеческими тиреоидной пероксидазой и тиреоглобулином. Готов к использованию.	1
Стандарты с антителами к тиреоглобулину и тиреоидной пероксидазе в сывороточно/буферном матриксе (PBS, BSA, NaN_3 <0,1% (w/w)), содержащие IgG: 0; 33; 100; 330; 1000; 3000 Ед/мл. Готовы к использованию.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли антител к тиреоглобулину и тиреоидной пероксидазе в сывороточно-буферном матриксе (PBS, BSA, NaN3 <0,1% (w/w)), положительный (1) и отрицательный (2), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер для образцов (Tris, NaN_3 <0,1% (w/w)), желтый, концентрат 5х.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (светло-красный) (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)), содержащий поликлональные кроличьи антитела к IgG человека, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (PBS, NaN3 <0,1% (w/w)), концентрат 50х	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °С
2. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
4. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.
5. Разведенные буфер для промывок и буфер для образцов стабильны при 2-8^{o}С по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

12. Не используйте повторно стрипы микропланшета.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный дозатор или диспенсер на 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечения для расчета результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Наносите все образцы на дно лунок
8. Для избежания контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
9. Для достижения наилучших результатов необходима тщательная промывка. После промывки тщательно удалите остатки буфера из лунок.
10. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
11. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации можно построить калибровочную кривую и провести полуколичественную оценку образцов сывороток пациентов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое каждого флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8^{o}C 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным. Раствор стабилен при 2-8^{o}C 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление образцов

Разведите все образцы сывороток пациентов 1:100 буфером для образцов перед исследованием. Например, смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера для образцов в полистироловой пробирке. Хорошо перемешайте.

Контроли и стандарты готовы к использованию и не требуют разведения.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разведенных проб сывороток пациентов в дублях.

2. Добавьте в соответствующие ячейки по **100 мкл** стандартов, контролей и предварительно разведенных образцов.

3. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20-28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и инкубируйте 5 минут при комнатной температуре.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут.
Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация: Тест-система ORGENTEC TG/TPO ELISA может быть использована с открытым автоматизированным оборудованием для ELISA. Процедура теста, приведенная выше,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

применима как для ручного, так и для автоматического исполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1), Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и F полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах. Также возможно использование логарифмических координат и аппроксимации гладким сплайном.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Сначала рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерений в дублях и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные средние значения ОП стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации исследуемых аутоантител в образцах.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Цифры и графики, показанные ниже - типичные результаты для анти-ТГ, полученные на этом наборе. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Калибраторы									
No	Позиция	ОП 1	ОП 2	Значение	Конц. 1	Конц. 2	Значение	ож. Конц.	CV %
S1	A 1/A 2	0,028	0,029	0,028	1,7	1,7	1,7	0,0	0
S2	B 1/B 2	0,184	0,176	0,180	99	93	96	100	4
S3	C 1/C 2	0,452	0,433	0,443	318	300	309	300	4
S4	D 1/D 2	0,970	0,937	0,954	1016	955	986	1000	3
S5	E 1/E 2	1,571	1,555	1,563	3075	2979	3027	3000	1
S6	F 1/F 2	2,011	1,986	1,998	9370	8603	8986	9000	1

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

При изучении нормального диапазона использовались сыворотки здоровых пациентов, и был установлен следующий диапазон значений для анти-ТГ и анти-ТПО:

	анти-ТГ (МЕ/мл)	анти-ТПО (МЕ/мл)
нормальные:	< 100	< 50
пороговые:	100 - 150	50 - 75
повышенные:	> 150	> 75

Положительные результаты должны быть выверены в соответствии с полной клинической картиной пациента. Также каждое терапевтическое решение должно быть принято индивидуально. Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория установила свой собственный диапазон нормальных и патологических значений тиреоидных антител в сыворотке. Значения выше референсного диапазона должны рассматриваться только как ориентировочные.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

Сыворотки с высокой концентрацией IgG-антител к к тиреоглобулину и тиреоидной пероксидазе были разведены буфером для образцов и проанализированы.

Анти-ТГ

Анти-тела	Образец	Разведение	**Н**аблюдаемое [Ед/мл]	**О**жидаемое [Ед/мл]	% извлечения
IgG	1	1:400	505.3		
		1:800	231.8	252.7	92 %
		1:1600	105.0	126.3	83 %
		1:3200	53.3	63.2	84 %
IgG	2	1:400	973.1		
		1:800	515.6	486.6	106 %
		1:1600	259.5	243.3	107 %
		1:3200	126.9	121.6	104 %

Анти-ТПО

Анти-тела	Образец	Разведение	**Н**аблюдаемое [Ед/мл]	**О**жидаемое [Ед/мл]	% извлечения
IgG	1	1:200	1366.9		
		1:400	617.7	683.5	90 %
		1:800	321.1	341.5	94 %
		1:1600	142.8	170.8	84 %
IgG	2	1:200	1348.0		
		1:400	731.7	674.0	108 %
		1:800	358.7	337.0	106 %
		1:1600	201.0	168.5	119 %
		1:3200	100.0	84.3	118 %

Воспроизводимость

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Статистика для коэффициентов корреляции (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одной постановке для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных анализов по 6 определений каждого образца:

Анти-ТГ

Внутри серии		
Образец, No	Значение, x (МЕ/мл)	CV (%)
1	746	2,6
2	1398	2,4
3	4674	5,0
Между сериями		
Образец, No	Значение, x (МЕ/мл)	CV (%)
1	765	5,7
2	1500	2,3
3	5565	4,0

Анти-ТПО

Внутри серии		
Образец, No	Значение, x (МЕ/мл)	CV (%)
1	377	3,1
2	835	3,5
3	2287	9,7
Между сериями		
Образец, No	Значение, x (МЕ/мл)	CV (%)
1	324	1,6
2	761	2,9
3	2173	1,5

Чувствительность

Нижняя граница определения для антител к тиреоглобулину составляет 10 Ед/мл, для антител к тиреоидной пероксидазе - 5 Ед/мл.

Специфичность

Микропланшет покрыт антигенами, выделенными из человеческой тироидной ткани и высоко очищенными аффинной хроматографией.

Набор на анти-ТГ определяет специфично аутоантитела класса IgG непосредственно к молекуле человеческого тироглобулина.

Набор анти-ТПО предназначен для количественного определения аутоантител класса IgG к человеческой тиреоидной пероксидазе. Антиген, используемый в этом тесте, очищен, чтобы регистрировать высокую активность тиреоидной пероксидазы.

Калибровка

Количественная тест-система прокалибрована стандартом ВОЗ 65/93 для анти-ТГ антител, и MRC 66/387 для анти-ТПО антител соответственно.

WHO 65/93 измерено как 1000 МЕ/мл анти-ТГ и MRC 66/387 определено как 1000 МЕ/мл анти-ТПО.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Данная тест-система может быть использована как часть диагностической процедуры. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

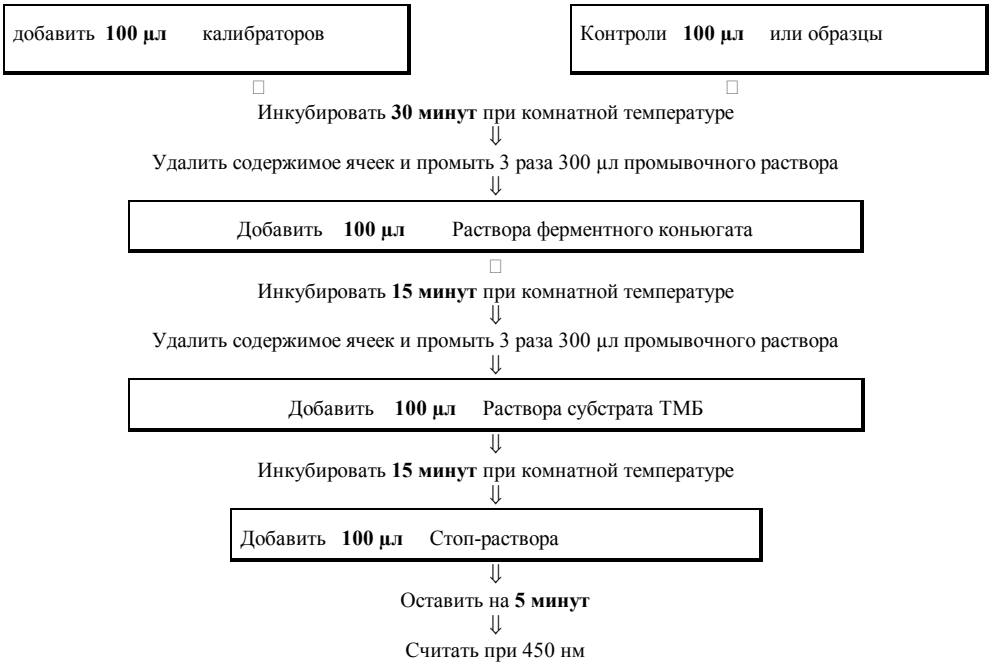
Не наблюдалось интерференции при тестировании образцов с гемолизом (до 1000 мг/дл), липемией (до 3 г/дл триглицеридов) или повышенным содержанием билирубина (до 40 мг/дл). Не наблюдалось какого-либо влияния при использовании антикоагулянтов. Однако, не рекомендуется использовать образцы с сильным гемолизом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

ЛИТЕРАТУРА

1. Becker, W., Reiners, C., Börner, W. Immunologische Kriterien zur Differentialdiagnose von Schilddrüsenerkrankungen. Therapiewoche 1985; 35: 1167 - 1176.
2. Czarnocka, B., Ruf, J., Ferrand, M. et al. Purification of the human thyroid peroxidase and its identification as the microsomal antigen involved in autoimmune thyroid diseases. FEBS Lett. 1985; 190: 147 - 152.
3. Czarnocka, B., Ruf, J., Ferrand, M. et al. Interaction of highly purified thyroid peroxidase with anti-microsomal antibodies in autoimmune thyroid diseases. J. Endocrinol. Invest. 1986; 9: 135 - 138.
4. Ruf, J., Czarnocka, B., Ferrand, M. et al. Thyroid peroxidase is the organ-specific 'microsomal' antigen involved in thyroid autoimmunity. Acta Endocrinol (Copenh) 1987; Suppl. 281: 49 - 55.
5. Ruf, J., Czarnocka, B., Ferrand, M. et al. Relationship between immunological structure and biochemical properties of human thyroid peroxidase. Endocrinology 1988; Vol. 125 (3): 1211 - 1218.
6. Horster, F. A. Die Bedeutung von MAK, TAK, TRAK und Thyreoglobulin bei der Diagnose von Schilddrüsenkrankheiten. Internist 1988; 29: 538 – 540.
7. McKenzie, J. M., Zakarija, M., Sato, A. Humoral immunity in Graves' disease. Clin. Endocrinol. Metab. 1978; 7: 31 - 45.
8. Scherbaum, W. A., Berg, P. A. Bedeutung von Autoantikörpern in der Diagnostik endokrinologischer Erkrankungen. Dtsch. Med. Wschr. 1981; 106: 308 - 313.
9. Scherbaum, W. A., Berg, P. A. Autoimmune Schilddrüsenerkrankungen - Neuere Aspekte zur Pathogenese und Diagnostik. Dtsch. Med. Wschr. 1984; 109: 1574 - 1581.
10. Schatz, H., Löbig, H. Diagnostische und prognostische Bedeutung von Antikörpern gegen Schilddrüsen-mikrosomen und Thyreoglobulin. Akt. Endokr. Stoffw. 1989; 10: 146 - 153
11. Hashimoto, H. Zur Kenntnis der lymphomatösen Veränderung der Schilddrüse (Struma lymphomatosa). Arch. Klin. Chir. 1912; 97: 219 - 248.
12. Libert, F., Ruel, J., Ludgate, M. et al. Thyroperoxidase, an auto-antigen with a mosaic structure made of nuclear and mitochodrial gene modules. EMBO J. 1987; 6: 4193 - 4196.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
Анти-ТГ / Анти-ТПО



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Anti-Insulin

Кат. Номер ORG 520

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и на английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского оригинала. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC ANTI-INSULIN предназначен для количественного измерения антител класса IgG к инсулину в образцах человеческой сыворотки или плазмы методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Этот метод предназначен для диагностики *in vitro* диабета I типа.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Диабет I типа в основном характеризуется ограничением или полным отсутствием секреции инсулина. Морфологические исследования показали деструкцию бета клеток, называемых также клетками островков Лангерганса у больных диабетом I типа. В многочисленных исследованиях описано появление антител против островковых клеток и инсулина как основная причина заболевания.

Антиинсулиновые антитела определяются у 37% пациентов с впервые выявленным диабетом I типа, у 4% из них - первая степень, и 1,5% положительных результатов - это контрольная группа здоровых лиц. Сообщалось о положительной корреляции между появлением антител к инсулину и антител к островковым клеткам.

Антиинсулиновые антитела могут быть определены за несколько месяцев, а в некоторых случаях и за несколько лет до клинической манифестации заболевания. В редких случаях могут появиться антитела к проинсулину.

Эти “истинные” антитела к эндогенному инсулину следует отличать от тех антител, которые есть у инсулинзависимых диабетиков при терапии инсулином животного происхожде-ния.

В этом случае появление антител - более позднее по времени событие - побочный эффект терапии инсулином. Эти побочные эффекты могут наблюдаться в виде локальной реакции кожи на появившиеся инсулинспецифические антитела. Эти антитела вызывают образование депозитов инсулина и могут быть причиной появления резистентности к терапии животным инсулином. Сообщалось и о других иммунологических феноменах у диабетиков I типа. У этих пациентов определялись также антитела других специфичностей, но они не могут быть дополнительной причиной аутоиммунной инсулиновой недостаточности.

Таблица, приведенная ниже, показывает процент выявления различных антител у диабетиков I типа по сравнению со здоровыми пациентами:

Специфичность антител	Пациенты с диабетом I типа, (%)	Здоровые пациенты (%)
Антитела к анти-островковым клеткам	32	1
Антитела против поверхностного антигена островковых клеток	~50	~2
Антитела к инсулину	до 70	0
Антитела к тиреоидной пероксидазе	18	6
Антитела к односпиральной ДНК	85	9

Показания:

- детекция антител к инсулину при диабете I типа
- появление антител к инсулину при инсулиновой терапии

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокоочищенным бычьим, свиным и рекомбинантным человеческим инсулином. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела к IgG человека, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту B 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.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит раствор фосфорной кислоты. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 7,8,9)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.
8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых смесью высокоочищенного бычьего, свиного и рекомбинантного человеческого инсулинов. Готов к использованию.	1
Калибраторы анти-инсулина (A-F) в сывороточно/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие: 0; 6.3; 12.5; 25; 50 и 100 Ед/мл. Готовы к использованию.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли анти-инсулина в сывороточно/буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3‹0,1%(w/w)), желтый, ***концентрат (5x)***.	1 флакон 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, PROCLIN 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (фосфатно-солевой буфер, NaN3‹0,1%(w/w)), ***концентрат (50x).***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование
- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов
- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28^{o}C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл (20 мл концентрата и 80 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

Приготовление образцов

Разбавьте все пробы пациентов в 100 раз буфером для образцов перед использованием. Смешайте 10 мкл образца и 990 мкл буфера образцов в полистирольной пробирке. Хорошо перемешайте. Контроли готовы к использованию и не требуют разбавления.

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки стандартов, контролей и предварительно разбавленных проб пациентов в дублях.

2. Добавьте в ячейки по **100 мкл** соответствующих стандартов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		SA-SF - стандарты от A до F; P1, P2…- образцы пациентов 1, 2 …; C1 – позитивный контроль; C2 – негативный контроль
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P..		
d	SB	SF	P2	P..		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

3. Инкубируйте 30 мин. при комнатной температуре (18-28 °C).

4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.

8. Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.

9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.

10. Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и выдержите 5 минут.

11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация: Тест-система ORGENTEC Anti-Insulin ELISA может быть использована с открытым автоматизированным оборудованием для ELISA. Процедура теста, приведенная выше, применима как для ручного так и для автоматического исполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест считается валидным при условии, что измеренные величины оптической плотности при 450 нм отрицательного, положительного контролей и калибраторов (A-F) согласуются с диапазоном, указанным в Сертификате контроля качества, вложенном в набор. Если критерии не выполняются, результаты анализа считаются недостоверными, и анализ необходимо повторить.

Расчет результатов

Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации и log-log координаты.

Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага.

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Калибраторы									
No	Позиция	ОП 1	ОП 2	Значение	Конц 1	Конц 2	Значение	ож. Конц	CV %
STA	A 1/B 1	0,036	0,032	0,034	0,1	0,1	0,1	0,0	8
STB	C 1/D 1	0,354	0,345	0,349	6,3	6,1	6,2	6,3	2
STC	E 1/F 1	0,621	0,602	0,611	12,9	12,4	12,7	12,5	2
STD	G1/H 1	0,984	1,005	0,994	25	25	25	25	1
STE	A 2/B 2	1,503	1,500	1,502	50	50	50	50	0
STF	C 2/D 2	2,057	2,035	2,046	102	99	100	100	1

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При При изучении нормального диапазона образцов сывороток здоровых доноров при использовании данного набора были установлены следующие значения:

	Анти-инсулин (Е/мл)
норма	< 10
повышенные	> 10

Положительные результаты должны быть выверены относительно полной картины клинического статуса пациента. Также каждое терапевтическое решение должно приниматься индивидуально.

Рекомендуется каждой лаборатории установить свой собственный диапазон значений нормы и патологии. Приведенные значения можно использовать только как ориентировочные.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями антител были разбавлены буфером для образцов и проанализированы.

Образец	Разбавление	Наблюдаемая конц. (Е/мл)	Ожидаемая (Е/мл)	Набл./ Ожид.
1	1:50	77.6		
	1:100	41.7	38.8	107%
	1:200	21.1	19.4	109%
	1:400	10.3	9.7	106%
	1:800	4.7	4.9	96%
2	1:100	100.7		
	1:200	50.7	50.4	101%
	1:400	23.7	25.2	94%
	1:800	11.1	12.6	88%
	1:1600	5.3	6.3	84%

Воспроизводимость

Статистика была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одиночном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных анализов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	11.2	2,5
2	27,6	2,9
3	59,7	4,0

между сериями		
Образец No	Среднее [Ед/мл]	CV [%]
1	11.6	6,0
2	31,2	5,2
3	69,5	4,3

Чувствительность

Нижняя граница определения для данного набора– 0,5 Ед/мл.

Специфичность

Микропланшет сорбирован смесью высоко очищенных бычьего, свиного и рекомбинантного человеческого инсулинов. Таким образом, данный набор распознает только специфичные IgG-антитела к этим инсулинам. Перекрестных реакций не обнаружено.

Калибровка

Поскольку не существует международно признанного стандарта аутоантител к инсулину, тест-система прокалибрована в относительных единицах.

Ограничения метода

Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

Интерференции

Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

ЛИТЕРАТУРА

1.Reeves, W.G. Insulin Antibody Determination: Theoretical and Practical Considerations. Diabetologia 24, 399 (1983).

2.Atkinson, M.A., Fisk, D.D., Spillar, R.P. and MacLaren, N.K. Insulin antibodies as markers for Insulin dependent diabetes mellitus (IDD). Diabetes 34, 926 - 930 (1985).

3.Willein, T., Nicholson, S. and Casey, C. A Micro Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Insulin Antibodies in Serum. J. Imm. Methods 76, 185 (1985).

4.Kobayashi, N. et al.A Solid-Phase Enzyme Immunoassay for Anti-Insulin Antibody in Diabetes Mellitus Patients.J. Imm. Methods 84, 245 (1985).

5.Wissllein, T. et al. Value of Insulin Antibodies as Serum marker for Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. Lancet 1, 480 (1985).

6.Soeldner, J.S. et al. Insulin-Dependent Diabetes Mellitus and Autoimmunity: islet-cell Autoantibodies and beta-cell failure. New Engl. J. Med. 313, 893 (1985).

7.Torfs, C.P. et al. Long Term Frozen Sera for Epidemiological Studies of Antibodies. Lancet 1, 503 (1986).

8.Seino, S. et al. Characterisation of Circulating Insulin in Insulin autoimmune Syndrome. Clin. Endo. & Metab. 62, 64 (1986).

9.Boitard, C.H. and McDewitt, H.O. Immunology of insulin-dependent diabetes mellitus. In. Cohen, J.R., (ed.) Perspectives on autoimmunity, 39-58 (1987). CRC Press, Boca Raton, FL

10.Nouvo, J.A., Baker, Jr., J.R., Wartowsky, l. et al. Autoantibodies to insulin are present in sera of patients with autoimmune thyroid diseases. Diabetes, 37, 317-320 (1988).

11.Witkin, T.J.10.Insulin Autoantibodies as markers for type I diabetes. Endocrine Reviews, 11, 92-104 (1990).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Добавить **100 µл** стандартов в микроячейки	Контроли **100 µл** контролей или проб пациента

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут** и Считать при **450 нм**

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

25-OH Vitamin D3/D2

Кат. № ORG 570

Замечание
Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом.

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ
Настоящий набор 25-OH Vitamin D3/D2 предназначен для количественного определения общей концентрации 25-OH Витамина D2 и 25-OH Витамина D3 в человеческой сыворотке или плазме (ЭДТА, гепариновой, цитратной) в целях выявления дефицита витамина D. Данный набор предназначен только для профессиональной In-vitro диагностики.

ПРИНЦИП МЕТОДА
Дно лунок микропланшета покрыто антителами, детектирующими 25-OH Витамин D2 и 25-OH Витамин D3. На первом этапе 25-OH витамины D, содержащиеся в образцах, должны быть высвобождены из белка, связывающего витамин D: неразведенный образец переносят в тестовую пробирку и смешивают с буфером для образца, содержащего трессерный реагент 25-OH витамина D, а затем с релизинг реагентом витамина D. Впоследствии 25-OH витамин D может быть определен с помощью тест-набора 25-OH Vitamin D3/D2 ELISA.
Определение основано на методе непрямого иммуноферментного анализа со следующими этапами:
Образцы с высвобожденными 25-OH витамином D вносят в реакционные лунки микропланшета.
25-OH витамин D в образце конкурирует с 25-OH трессерным реагентом витамина D за связывания с антителами к 25-OH витаминам D, фиксированными в лунках. При этом образуются комплексы между антителами и 25-OH витамином D или антителами и трессерным реагентом 25-OH витамина D. После инкубации, при первом этапе промывки удаляются несвязанные и неспецифически связанные молекулы. После этого вносится ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованными комплексами трессерный реагент-антитела.

После инкубации во время второй промывки удаляется несвязавшийся ферментный конъюгат. После инкубации с раствором субстрата образуется синий окрашенный продукт. Внесение кислоты останавливает реакцию с образованием желтого конечного продукта. Интенсивность желтого окрашивания коррелирует обратно с концентрацией витамина D и может быть измерено фотометрически при длине волны 450 нм.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ
Витамин D занимает особое положение среди витаминов: мы не получаем его с пищей, он продуцируется в организме. Витамин D3 (холекальциферол) продуцируется в результате фотохимической реакции в коже, под действием солнечного света, из предшественника 7-дегидрохолестерина.
В природе витамин D обнаруживается в основном в рыбьем жире, жирных рыбах, в меньшей степени в некоторых грибах Они часто содержат витамин D2, являющийся производным эргостерола (провитамина D2). Кроме того, витамин D2 часто добавляют во многие продукты, и он может поступать с пищей.
Обе формы витамина D, витамин D3 и витамин D2, преобразуются в печени в 25-OH витамин D3 и 25-OH Витамин D2. Затем небольшая часть 25-OH производных метаболизируется в почках до 1,25 (OH)2-витамина D3 и 1,25 (OH)2-витамина D2, физиологически активных форм витамина D.
В кровотоке 25-OH витамин D3 и 25-OH витамин D2 с высокой аффинностью связываются с витамин D связывающим белком. Образующийся комплекс и является основной формой циркулирующего в кровотоке витамина D. Концентрация 25-OH витамина D является лучшим показателем поступления витамина D в организм. Уровень 25-OH витамина D коррелирует с клиническими симптомами дефицита витамина D.
Большинство клеток организма имеют высокоаффинный рецептор витамина D, который позволяет клеткам реагировать на изменение концентрации витамина D. Таким образом витамин D влияет на дифференцировку клеток, ингибирует рост клеток, играет роль в апоптозе, влияет на иммунную систему, другие гормональные системы. Следовательно, последствия дефицита витамина D могут проявляться различным образом во многих органах.
Наиболее известная функция витамина D – это его участие в метаболизме кости. Витамин D регулирует уровень кальция в крови, таким образом поддерживая минерализацию кости. Дефицит витамина D ведёт к развитию рахита у детей и остеомаляции (размягчение кости) у взрослых. У людей в возрасте старше 50 лет уровень витамина D непосредственно ассоциирован а плотностью кости, и недостаток витамина D является сильным фактором риска остеопороза.
Концентрация 25-OH витамина D выше 30 нг/мл считается показателем достаточного поступления витамина D в организм; значения 21-29 нг/мл указывают на недостаток витамина D; уровень ниже 20 нг/мл свидетельствует о дефиците витамина D.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ
ORG 570 96 определений

MICRO PLATE	1	Микропланшет, состоящий из 12 раздельных стрипов по 8 лунок каждый. Готов к использованию. Маркировка на микропланшете: **VD**
CALIB RATOR A	1x 1.5 мл	Калибратор А 5 нг/мл, содержит 25- OH витамин D в буферном матриксе (TBS, рекомбинантный альбумин, NaN3 0.09%), желтый.
CALIB RATOR B	1x 1.5 мл	Калибратор А 12,5 нг/мл, содержит 25- OH витамин D в буферном

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

		матриксе (TBS, рекомбинантный альбумин, NaN3 0.09%), желтый.
CALIBRATOR C	1x 1.5 мл	Калибратор А 25 нг/мл, содержит 25- ОН витамин D в буферном матриксе (TBS, рекомбинантный альбумин, NaN3 0.09%), желтый.
CALIBRATOR D	1x 1.5 мл	Калибратор А 40 нг/мл, содержит 25- ОН витамин D в буферном матриксе (TBS, рекомбинантный альбумин, NaN3 0.09%), желтый.
CALIBRATOR E	1x 1.5 мл	Калибратор А 80 нг/мл, содержит 25- ОН витамин D в буферном матриксе (TBS, рекомбинантный альбумин, NaN3 0.09%), желтый.
CALIBRATOR F	1x 1.5 мл	Калибратор А 120 нг/мл, содержит 25- ОН витамин D в буферном матриксе (TBS, рекомбинантный альбумин, NaN3 0.09%), желтый.
CONTROL +	1x 1.5 мл	Контроль **«достаточность»**, содержит 25- ОН витамин D в буферном матриксе (TBS, рекомбинантный альбумин, NaN3 0.09%), желтый. Концентрация указана в сертификате анализа.
CONTROL -	1x 1.5 мл	Контроль **«дефицит»**, содержит 25- ОН витамин D в буферном матриксе (TBS, рекомбинантный альбумин, NaN3 0.09%), желтый. Концентрация указана в сертификате анализа.
DILUENT	20 мл	Буфер для образцов, содержит трессерный реагент 25- ОН витамина D в буферном матриксе (TBS, рекомбинантный альбумин, NaN3 0.09%), зеленый. Готов к использованию.
CONJUGATE	15 мл	Ферментный конъюгат; содержит стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена (HRP); ФСБ, БСА, детергент, консервант Проклин 300 0.05%; красный раствор. Готов к использованию.
EXTRACT	20 мл	Релизинг реагент; содержит цитрат железа, толуенсульфонат натрия, цитрат натрия, хлорид натрия; желтый. Готов к использованию.
TMB	15 мл	Субстрат TMB; содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин, бесцветный. Готов к использованию.
STOP	15 мл	Стоп-раствор, содержит кислоту. Готов к использованию.
WASH	20 мл	Промывочный буфер, содержит Трис, детергент, консервант азид натрия, концентрат 50х
	1	Инструкция по использованию: мини-CD
	1	Сертификат анализа

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм, оптимальный фильтр сравнения 620 нм.
- Программное обеспечения для расчета результатов
- Многоканальные пипетки или диспенсер на 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 80, 100 и 160 мкл
- Лабораторный таймер
- Дистиллированная или деионизированная вода
- Мерные цилиндры на 1000 и 100 мл
- Пластиковый контейнер для хранения промывающего раствора

ИФА наборы, производимые ORGENTEC можно использовать для работы на открытых автоматизированных ИФА анализаторах. Каждый набор можно адаптировать для работы на автоматических системах. Более подробная информация предоставляется по запросу.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику сбора крови, избегая гемолиза.
2. После образования сгустка отделите сыворотку или плазму от клеток центрифугированием.
3. Тестируемые образцы должны быть прозрачными и негемолизированными. Липемичные образцы с концентрацией триолеина > 15 мг/мл использовать для анализа нельзя.
4. Образцы могут храниться охлажденными при 2 - 8 °C в течение как минимум 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить при -20°C.
5. Не подвергайте образцы воздействию тепла, солнца или сильного света во время хранения и использования.
6. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания образцов сыворотки или плазмы.
7. Не рекомендуется проводить тестирование образцов сыворотки, инактивированных нагреванием.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C в темноте
2. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.
3. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.
4. Срок годности неоткрытого набора составляет 12 месяцев с даты производства. Неоткрытые реагенты стабильны течение всего срока годности (см. этикетки флаконов).
5. Разведенный буфер для промывок стабилен при 2-8ºC в течение 30 дней. Рекомендовано использовать в тот-же день.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Позвольте всем материалам нагреться до комнатной температуры (20-28°C) перед использованием.
4. Подготовьте все реагенты и образцы. После начала проводите анализ без каких-либо останонок между этапами.
5. Тестирование желательно проводить в дублях. Таким методом можно выявить ошибки пипетирования.
6. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность этапов, приведенную в данной инструкции.
7. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов.
8. Вносите все реагенты и образцы на дно лунок.
9. Для избежания переходящей контаминации меняйте наконечники при внесении каждого нового образца и разных контролей.
10. Тщательно промывайте лунки микропланшета. После промывки тщательно удалите остатки буфера из лунок.
11. Строго соблюдайте время каждой реакции.
11. Не используйте повторно лунки микропланшета.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены только для диагностики *in vitro,* только для профессионального использования.
2. Калибраторы, контроли и буфер для образцов содержат рекомбинантный человеческий альбумин, но материал получен не из человеческой крови или ткани. Рекомендовано работать с реагентами данного тест-набора как потенциально инфекционно опасным материалом.
3. Бычий сывороточный альбумин (БСА), входящий в состав компонентов набора, был протестирован на наличие губчатого энцефалита крупного рогатого скота. Результаты были отрицательными.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином).
5. Стоп-раствор содержит кислоту. Реагент не является опасным, тем не менее, избегайте контакта реагента с кожей и слизистыми оболочками.
6. Контроли, буфер для образцов, среда для экстракции содержат 0,09% азид натрия в качестве консерванта. В данной концентрации не является опасным.
7. Ферментный конъюгат содержит Проклин 300 0.05% в качестве консерванта. В данной концентрации не является опасным.
8. При работе со всеми реагентами, контролями и образцами сывороток соблюдайте указания в руководствах по безопасности и т.н. «надлежащей лабораторной практике».
9. Оказание первой помощи: в случае контакта с кожей, тщательно промойте с водой и мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь, тщательно ее промойте. В случае контакта системных жидкостей с кожей, промойте большим количеством воды. В случае попадания реагентов в глаза, промойте под проточной водой в течение как минимум 10 минут. При необходимости обратитесь за медицинской помощью.
10. Персональная безопасность, средства защиты и экстренные меры: См. руководства по мерам безопасности при работе в лаборатории. Избегайте контакта с кожей и глазами. Не глотайте реагенты. Не пипетируйте ртом. Не ешьте, не пейте, не курите, не делайте макияж в помещении, где проводится анализ. При проливании реагента, соберите его с использованием инертных материалов и поместите в подходящий контейнер для отходов.
11. Предотвращение контакта/персональная защита: используйте резиновые или латексные защитные перчатки. Испеользуйте защитные очки. При использовании компонентов набора по назначению, они не предтсавляют опасности.
12. Необходимо избегать: раствор субстрата является светочувствительным. Храните реагент в темноте.
13. При утилизации лабораторных отходов соблюдайте национельные или региональные рекомендации.
14. Следуйте указаниям в руководствах по проведению контроля качества в медицинских лабораториях, используйте в постановках контрольные сыворотки.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Промывочный буфер (WASH)

Перед использованием разведите содержимое одного флакона с концентратом промывочного буфера (50х) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл.

Буфер для образцов (DILUENT)

Готов к использованию.

Подготовка образцов

Примечание: Калибраторы/Контроли должны быть подготовлены так же, как тестируемые образцы!

Внесите 80 мкл неразведенного тестируемого образца или калибратора или контроля в пробирку и добавьте 80 мкл Буфера для образцов. Хорошо перемешайте. Затем добавьте 160 мкл Релизинг реагента. Хорошо перемешайте.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Приготовьте достаточное количество стрипов для тестирования калибраторов, контролей и тестируемых образцов.

1. Внесите в соответствующие лунки по **100 мкл** калибраторов, контролей и предварительно разведенных образцов.

Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (20-28 °С).

Удалите содержимое лунок и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

2. Внесите во все лунки по **100 мкл** раствора ферментного конъюгата.

Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

Удалите содержимое лунок и **трижды промойте 300 мкл** промывочного раствора.

3. Внесите во все лунки по **100 мкл** субстрата ТМБ.

Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.

4. Внесите во все лунки по **100 мкл** стоп-раствора и инкубируйте **5 минут** при комнатной температуре.

Считайте оптическую плотность при 450 нм (референсный фильтр 600-690 нм) и вычислите результаты.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считывайте оптическую плотность за это время.

Пример схемы пипетирования:

	1+2	3+4	5+6	7+8	9+10	11+12
a	A	P1				
b	B	P2				
c	C	P3				
d	D					
e	E					
f	F					
g	C+					
h	C-					

A, B, C, D, E, F – калибраторы; C+, C- - контроли; P1, P2…..– тестируемые образцы

ВАЛИДАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты данного теста считаются действительными только в случае, если значения ОП при 450 нм для калибраторов/контролей, а также контрольных материалов находятся в диапазонах, указанных 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 количественной оценки результатов строят калибровочную кривую: на графике против оптической плотности для каждого калибратора отмечают концентрацию калибратора. Концентрация аналита в тестируемых образцах может быть оценена по калибровочной кривой за счет интерполяции.

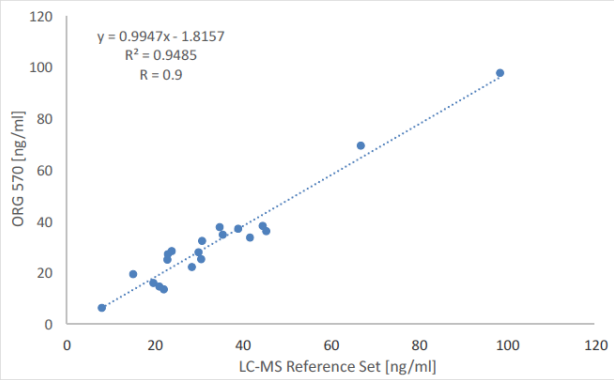
Можно использовать программное обеспечение для проведения 4-х параметрическоq lin-log аппроксимации оптической плотности и определения концентрации аналита.

ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДА

КАЛИБРОВКА

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Калибровка прослеживается по референсному препарату REF!25OHD, метод ID-LC/Тандемная масспектрометрия (Labquality, IQAS).

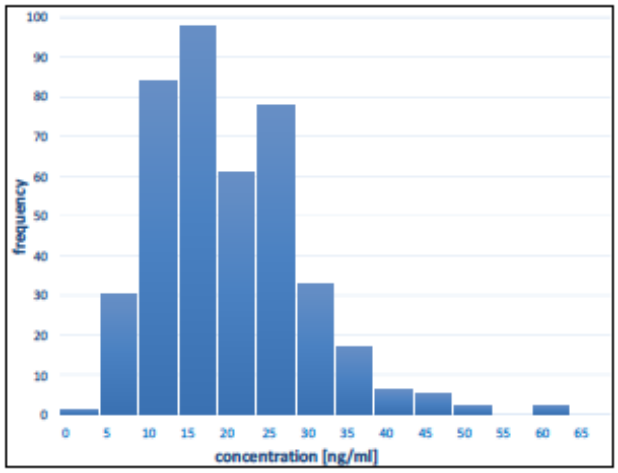


Измеряемый диапазон

Измеряемый диапазон данного ИФА метода: 15-120 нг/мл.

Ожидаемые значения

Для определения референсного диапазона были протестированы образцы здоровых доноров (собраны в марте месяце в Германии). Данным ИФА методом установлены следующие диапазоны.



Популяция	Количество	Возраст, лет	Средний возраст, лет	Средняя концентрация (нг/мл)	5 Перцентиль (нг/мл)	95 Перцентиль (нг/мл)
Мужчины	242	19-68	42	19.8	8.6	35.8
Женщины	142	18-68	41	22.4	8.4	40.2
Всего	384	18-68	42	20.7	8.4	38.0

Интерпреатция результатов

Дефицит: < 12 нг/мл (< 30 нмоль/л)
Недостаточность: 12 - 20 нг/мл (30 - 50 нмоль/л)
Достаточно: > 20 - 150 нг/мл (> 50 - 375 нмоль/л)
Ограничения метода:
Согласно литературным данным предложено несколько референсных диапазонов. Примеры:
Ссылка 5
Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), (ÖGE), (SGE), (SVE), Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, Vitamin D. 2012; ISBN 978-3-86528-128-9).
Дефицит: <12 нг/мл; Недостаточность: 12-20 нг/мл; Достаточность: > 20-160 нг/мл; Гипервитаминоз 160-500 нг/мл
Ссылка 9
Holick, M.F. Vitamin D deficiency. N. Engl. J.M. 2007, 357: 266-281.
Дефицит: <20 нг/мл; Недостаточность: 21-29 нг/мл; Достаточность: > 30 нг/мл; Интоксикация > 150 нг/мл
Ссылка 16
National Osteoporosis Society 2013, Vitamin D and Bone Health: A Practical Clinical Guideline for Patient Management.
Дефицит: <12 нг/мл; Недостаточность: 12-20 нг/мл; Достаточность: > 20 нг/мл.
Согласно литературным данным, такие факторы, как питание, сезон, цвет кожи, возраст или культурологические особенности влияют на нормальные уровни 25-OH витаминов D.
Диапазоны концентрации для оценки содержания витамина D следует рассматривать как рекомендованные.
Каждая лаборатория должна установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189:2007 (Требования по качеству и компетентности к медицинским лабораториям) или другими применимыми критериями.

Линейность

Для определения динамического диапазона и верхнего/нижнего предела линейности тестируемые образцы, содержащие 25-OH-Витамины D в высоких концентрациях, были серийно разведены буфером для разведения образцов. Содержание в каждом разведении было определено по калибровочной кривой с использованием 4 – параметрической аппроксимации в lin-log координатах.

Образец	Разведение	Измеренные, нг/мл	Ожидаемые, нг/мл	И/О, %
	1:1	113.3	113.3	100
	1:1,8	72.1	63.3	114
	1:4,3	29.8	26.3	113
	1:8,3	13.7	13.7	100
	1:15,5	7.3	7.3	100
	1:2	90.0	90.0	100
	1:4	45.9	45.0	100
	1:8	21.2	22.5	94
	1:16	9.5	11.3	84
	1:32	5.6	5.6	100
	1:2	83.4	83.4	100
	1:4	43.8	41.7	105
	1:8	21.0	20.9	101
	1:16	9.3	10.4	89

Лимит детекции

Минимально определяемая концентрация: 5 нг/мл

Воспроизводимость

Воспроизводимость внутри серии: Коэффициент вариации рассчитан для каждого из четырех образцов по результатам 20 определений в одном опыте. Результаты определения воспроизводимости внутри одной серии представлены в таблице ниже.

Воспроизводимость между сериями: Коэффициент вариации для каждого из четырех образцов по результатам 2 определений в 5 разных опытах. Результаты определения воспроизводимости между сериями представлены в таблице ниже.

Внутри серии		
Образец	Среднее [нг/мл]	CV [%]
1	10.5	14.6
2	34.2	7.1
3	60.4	9.3
4	118.6	6.2

между сериями		
Образец	Среднее [нг/мл]	CV [%]
1	13.0	9.6
2	33.0	9.8
3	55.6	9.0
4	96.6	11.7

ВЛИЯЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

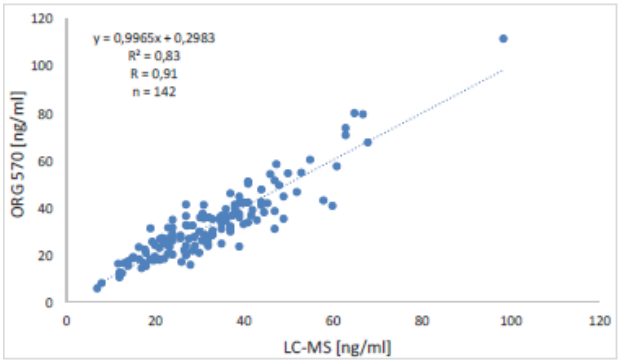
Не наблюдалось интерференции при тестировании образцов с гемолизом (до 1000 мг/дл), липемией (до 3 г/дл

www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

триглицеридов) или повышенным содержанием билирубина (до 40 мг/дл). Не наблюдалось какого-либо влияния при использовании антикоагулянтов (ЭДТА, цитрат, гепарин). Однако, не рекомендуется использовать образцы с сильным гемолизом или липемией.

Результаты исследований

Результаты тест-набора ORGENTEC 25-OH Vitamin D3/D2 показали хорошую корреляцию с методом LC-MS (Жидкостная масс-спектрометрическая хроматография):



Специфичность определяли при измерении перекрестной реактивности с веществами, связанными с 25-OH витаминами D. Перекрестная реактивность представлена как % относительной реактивности 25-OH витамина D3:

25-OH Витамин D3	100 %
25-OH Витамин D2	103 %
Витамин D3 (Холекальциферол)	< 0.2 %
Витамин D2 (Эргокальциферол)	< 0.2 %

ЛИТЕРАТУРА

1. Ashraf, A. et al. Threshold for effects of vitamin D deficiency on glucose metabolism in obese female African-American adolescents. J Clin Endocrinol Metab 94 (9):3200-3206, 2009.
2. Baker, A. M. et al. A nested case-control study of midgestation vitamin D deficiency and risk of severe preeclampsia. J Clin Endocrinol Metab 95 (11):5105-5109, 2010.
3. Crew, K. D. et al. Association between plasma 25-hydroxyvitamin D and breast cancer risk. Cancer Prev Res (Phila) 2 (6):598-604, 2009.
7. Hayek J. El, G. Egeland, and H. Weiler. Vitamin D status of Inuit preschoolers reflects season and vitamin D intake. J Nutr 140 (10):1839-1845, 2010.
8. Holick, M.F. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. J Clin Invest 116 (8):2062-2072, 2006.
9. Holick, M.F. Vitamin D deficiency. N. Engl. J.M. 2007, 357: 266-281.
10.Holick, M.F. Sunlight and Vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancer and cardiovascular disease. Am. J.Clin. Nutr. 2004; 80: 1678-1688.
11.Hollis B.W. Measuring 25-hydroxyvitamin D in a clinical environment: challenges and needs. Am. J. Clin. Nutr. 2008; 88: 507S-10S.
12.Houghton L.A. and Vieth R. The case against ergocalciferol (vitamin D2) as a vitamin supplement. Am. J. Clin. Nutr. 2006; 84:694-697.
13. Jorde, R. et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels are strongly related to systolic blood pressure but do not predict future hypertension. Hypertension 55 (3):792-798, 2010.
14. Kamen, D. L. and Alele, J. D. Skeletal manifestations of systemic autoimmune diseases. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 17 (6):540-545, 2010.
15. Krasowski, M. D. Pathology consultation on vitamin D testing. Am J Clin Pathol 136 (4):507-514, 2011.
16.National Osteoporosis Society 2013, Vitamin D and Bone Health: A Practical Clinical Guideline for Patient Management.
17. Sen, D. and Ranganathan, P. Vitamin D in rheumatoid arthritis: panacea or placebo? Discov Med 14 (78):311-319, 2012.
18.Wen, H. and Baker, J. F. Vitamin D, immunoregulation, and rheumatoid arthritis. J Clin Rheumatol 17 (2):102-107, 2011.
19. Zerwekh, J.E. Blood biomarkers of Vitamin D status, Am. J.Clin. Nutr. 2004; 87: 1087-91.
20. Enko, D. Method evaluation study of a new generation of vitamin D assays. Biochemia Medica 25(2): 203-12, 2015.
4. Cutolo, M. Vitamin D and autoimmune rheumatic diseases. Rheumatology (Oxford), 48 (3): 210-212, 2009
5. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), (ÖGE), (SGE), (SVE), Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, Vitamin D. 2012; ISBN 978-3-86528-128-9.
6. Garland, C.F. et al. Vitamin D for Cancer Prevention: Global Perspective. Ann. Epidemiol. 2009; 19: 468-483.

Beta-2-Microglobulin

96 тестов

Кат. № ORG 5BM

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского оригинала. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный метод ORGENTEC Beta-2-Microglobulin предназначен для количественного определения β2-микроальбумина в человеческой сыворотке или плазме методом иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Набор предназначен только для диагностики in vitro с целью диагностики лимфотических заболеваний и почечных дисфункций.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Белки, проходящие через клубочковую базальную мембрану почек, подвергаются дифференциальной фильтрации. Проницаемость обратно пропорциональна молекулярному весу (альбумин около 0.6 %, миоглобин около 75 %). Тем не менее, только минимальные количества белков детектируются в моче, потому что большие количества белков реабсорбируются в канальцах. Повышенная клубочковая проницаемость для белков и высокие потери белков плазмы в канальцах могут быть определены при измерении распределения молекулярного веса элиминированных белков.

Структура элиминированных белков в моче дает информацию о: - повышенной потере белков
- дифференциации протенурии
- предварительной диагностике болезней почек
- тип протенурии: клубочковая или канальцевая

Диагностические значимые белки:
- IgG (ММ 150 000)
- альбумин (ММ 66 000)
- альфа-1-микроглобулин (ММ 33 000)
- бета-2-микроглобулин (ММ 12 000)
- ретинол связывающий белок (ММ 21 000)
- легкие цепи иммуноглобулинов (белок Bence-Jones) (ММ 22 000)

Бета-2-микроглобулин имеет молекулярную массу 12 kD и принадлежит к части легкой цепи мембран-связанных HLA антигенов. HLA-I состоит из двух полипептидных цепей: тяжелой цепи с антигенными структурами и легкой цепи.

Определение бета-2-микроглобулина в сыворотке или плазме является вспомогательным в клинической оценке клеточного иммунитета и используется в качестве онкомаркера. Измерение уровня бета-2-микроглобулина в моче свидетельствует о нарушении почечной фильтрации.

Бета-2-микроглобулин синтезируется в лимфатической системе. Множественные миеломы, болезнь Ходжкина, хронический лимфлейкоз и другие злокачественные неходжкинские лимфомы повышают детектируемые концентрации бета-2-микроглобулина в результате повышения клеточного оборота. По этой причине уровни бета-2-микроглобулина являются хорошим индикатором развития заболевания и оценки терапии. Другие заболевания с активацией клеточной иммунной системы также вызывают повышение бета-2-микроглобулина в сыворотке.

В почках бета-2-микроглобулин фильтруется клубочками и реабсорбируется в канальцах. В моче с кислым pH молекулы белка неустойчивы. Измерение бета-2-микроглобулина в сыворотке и моче позволяет провести дифференциацию между активацией лимфатической системы и нарушением функции почек.

Показания:
- лимфатические заболевания
- изменения гломерулярной и тубулярной фильтрации
- почечные тубулярные нарушения, связанные с тяжелыми металлами (Cd, Hg)
- отторжение пересаженной почки

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокоочищенными анти-человеческими антителами к бета-2-микроглобулину. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела к бета-2-микроглобулину, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации бета-2-микроглобулина, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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.
4. Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Избегайте контакта со стоп-раствором, содержащим кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов и буфер для промывок) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN3) является высоко токсичным веществом и реактивен в чистом виде. В концентрациях, присутствующих в наборе (0.09%), он не опасен. Несмотря на лассификацию как не опасное вещество, рекомендуется соблюдать правила хорошей лабораторной практики (см. 8., 9., 10.).
7. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При утилизации реагентов, содержащих Proclin 300, тщательно промывайте водопроводную систему большим количеством воды, для разведения ниже активного уровня.
8. При работе с образцами и реагентами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки
9. Не пипетируйте ртом
10. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить
11. Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.
Соблюдайте руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроля и/или пулов сыворотки.
В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови соблюдайте принятые правила.

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенными поликлональными кроличьими антителами к бета-2-микроглобулину человека. Готов к использованию.	1
Калибраторы бета-2-микроглобулина в PBS/BSA буфере (PBS, BSA, NaN_3 <0,1% (w/w)), содержащие: 0; 0.75; 1.5; 3; 6 и 12 мкг/мл. Готовы к использованию.	6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли бета-2-микроглобулина в PBS/BSA буфере (PBS, BSA, NaN_3 <0,1% (w/w)), (положительный и отрицательный), см. вкладыш со значениями. Готовы к использованию.	2 флакона 1,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN3 <0,1% (w/w)), желтый, ***концентрат (5x)*.**	1 флакон, 20 мл
Раствор ферментного коньюгата (PBS, PROCLIN 300 <0,5% (v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи IgG-антитела к бета-2-микроглобулину человека, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон, 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (PBS, BSA, NaN_3 <0,1% (w/w)), ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Храните набор при 2-8 °C.
2. Храните микропланшет запечетанным, в сухом пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
4. Не подвергайте реагенты нагреванию, не допускайте попадания прямых солнечных лучей или яркого света во время хранения или использования.
5. Разведенный буфер для обраразцов и буфер для промывок стабильны в течений 30 дней при хранении при 2-8 °C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Вортекс
- Пипетки на 10, 100 и 1000 мкл
- Таймер
- Программное обеспечение для обработки результатов

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови обычной венопункцией, избегая гемолиза.
2. Дайте крови свернуться и отделите сыворотку центрифугированием.
3. Тестируемая сыворотка должна быть чистой и без гемолиза. Избегайте тестирования гемолизных или липемичных образцов, хотя ни гемолиз, ни липемия не влияют на результаты анализа.
4. Образцы могут храниться при 2-8 °C до 5 дней и при -20 °C до 6 месяцев.
5. Избегайте повторных циклов замораживания/оттаивания. Это можт привести к различным потерям активности аутиантител.
6. Не рекомендуется тестировать образцы, инактивированные нагреванием.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока годности.
2. Не заменяйте компоненты набора реагентами из других лотов.
3. Все материалы должны достичь комнатной температуры (20-28 °C) перед тестированием.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. Перед началом анализа подготовьте все реагнты и образцы. После начала процедуры анализа должны выполняться без остановок, для получения наиболее достоверных и точных результатов.
5. Выполняйте все шаги анализа только в полном соответствии с данной инструкцией.
6. Всегд используйте свежие разведения образцов.
7. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно лунок.
8. Чтобы избежать перекрестной контаминации меняйте наконечники перед нанесением каждого образца и контроля.
9. Для достижения наиболее точных результатов очень важно тщательно промывать лунки микропланшета и удалить после промывки весь промывочный буфер из лунок.
10. Все инкубации должны проводиться строго в течение указанного времени.
11. Контрольные сыворотки или пулы должны тестироваться при каждой постановке, также, как и образцы, для проверки качества используемых реагентов и выполняемого анализа.
12. Не используйте лунки микропланшета повторно.

Концентрации контролей указаны на этикетках флаконов. Используя эти концентрации, можно построить калибровочную кривую, для получения полуколичественных результатов для тестируемых образцов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для образцов

Разбавьте содержимое флакона с 5-кратным концентратом буфера для образцов дистиллированной водой до конечного объема 100 мл, перед использованием. Готовый буфер для образцов хрниться при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Приготовление промывочного буфера

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Готовый промывочный буфер храниться при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления, или до истечения срока годности, указанного на этикетке.

Подготовка образцов

Разведите все образцы в 100 раз буфером для образцов перед тестированием. Например, внесите 10 мкл образца в 990 мкл буфера для образцов, в полистироловой пробирке. Тщательно перемешайте.

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки калибраторов, контролей и проб пациентов в дублях.

		2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P..		
b	SA	SE	P1	P..		
c	SB	SF	P2			
d	SB	SF	P2			
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P..			
h	SD	C2	P..			

2. Добавьте в ячейки **100 мкл** калибраторов, контролей и предварительно разбавленных образцов пациентов в ячейки.
3. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре (20 - 28 °C).
4. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.
5. Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.
6. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
7. Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.
8. Добавьте **100 мкл** субстрата TMB в каждую ячейку.
9. Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
10. Добавьте 100 мкл стоп-раствора в каждую ячейку и позвольте постоять 5 минут.
11. Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 минут. Считайте оптическую плотность за это время.

Автоматизация

Метод ORGENTEC Beta-2-Microglobulin ELISA может быть выполнен с помощью открытого автоматического ИФА анализатора. Процедура метода, описанная выше, пригодна как для автоматического, так и для ручного выполнения.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Анализ данный методом может считаться достоверным только в случае, если оптическая плотность положительного контроля (1) и отрицательного контроля (2), а также стандартов A – F, измеренная при длине волны 450 нм, попадает в диапазон допустимых значений, указанных в сертификате контроля качества, поставляемом в наборе! Если какой-либо из этих критериев не выполняется, результаты считаются не достоверными и тест должен быть выполнен еще раз.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации.

⇒Образцы сыворотки могут быть рассчитаны прямо из калибровочной кривой
⇒Результаты для мочи <u>следует разделить на 10</u> после расчета.

Для ручного расчета рекомендуется линейно-логарифмическая миллиметровая бумага

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого калибратора. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите среднюю оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Примет расчетов
В таблице ниже приведены типичные результаты, полученные при анализе данным методом ORGENTEC Beta-2-Microglobulin ELISA. Эти данные приведены только для иллюстации и не должны использоваться для расчета результатов какого-либо анализа.

Стандарты									
No	Позиция	ОП 1	ОП 2	Среднее	Конц. 1	Конц. 2	Среднее	декл. конц.	CV %
ST1	A1 / A2	0.027	0.024	0.025	0.10	0.10	0.10	0.00	8
ST2	B1 / B2	0.539	0.524	0.532	0.79	0.77	0.78	0.75	2
ST3	C1 / C2	0.911	0.910	0.910	1.4	1.4	1.4	1.5	0
ST4	D1 / D2	1.484	1.527	1.506	3.0	3.2	3.1	3.0	2
ST5	E1 / E2	1.956	1.903	1.934	6.5	5.8	6.1	6.0	2
ST6	F1 / F2	2.204	2.210	2.207	11.4	11.6	11.5	12.0	0

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ
В нормальном диапазоне при изучении образцов мочи и сыворотки/плазмы у здоровых пациентов с помощью этого набора получен следующий диапазон:
пробы мочи: 0 - 0.3 µг/мл
образцы сыворотки или плазмы:0 - 3.0 µг/мл
Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория установила свой собственный диапазон значений нормы и патологии.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность
В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями β2-микроальбумина были разбавлены буфером для образцов и проанализированы. Анализ был линеен во всем диапазоне измерения.

Воспроизводимость
Статистика для коэффициентов корреляции (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одиночном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась в результатах 5 различных анализов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Значение x [µг/мл]	CV [%]
1	1.6	4.2
2	7.2	2.6
3	12.5	3.6
Между сериями		
Образец No	Значение x [µг/мл]	CV [%]
1	1.7	4.9
2	7.5	3.8
3	13.1	4.9

Чувствительность
Минимально детектируемый предел для бета-2-микроглобулина - 0.1 мкг/мл.

Специфичность
Антисыворотка анти-бета-2-микроглобулин (поликлональная, кроличья) высокоспецифична к бета-2-микроглобулину человека. Перекрестные реакции не наблюдались.

Ограничения метода
Набор следует использовать как дополнительный диагностический метод, но он не должен использоваться как основной и единственный. Диагностика не может основываться на результате единственного теста, такой результат должен оцениваться клиницистами только в совокупности с информацией, полученной от других клинических и лабораторных исследований.

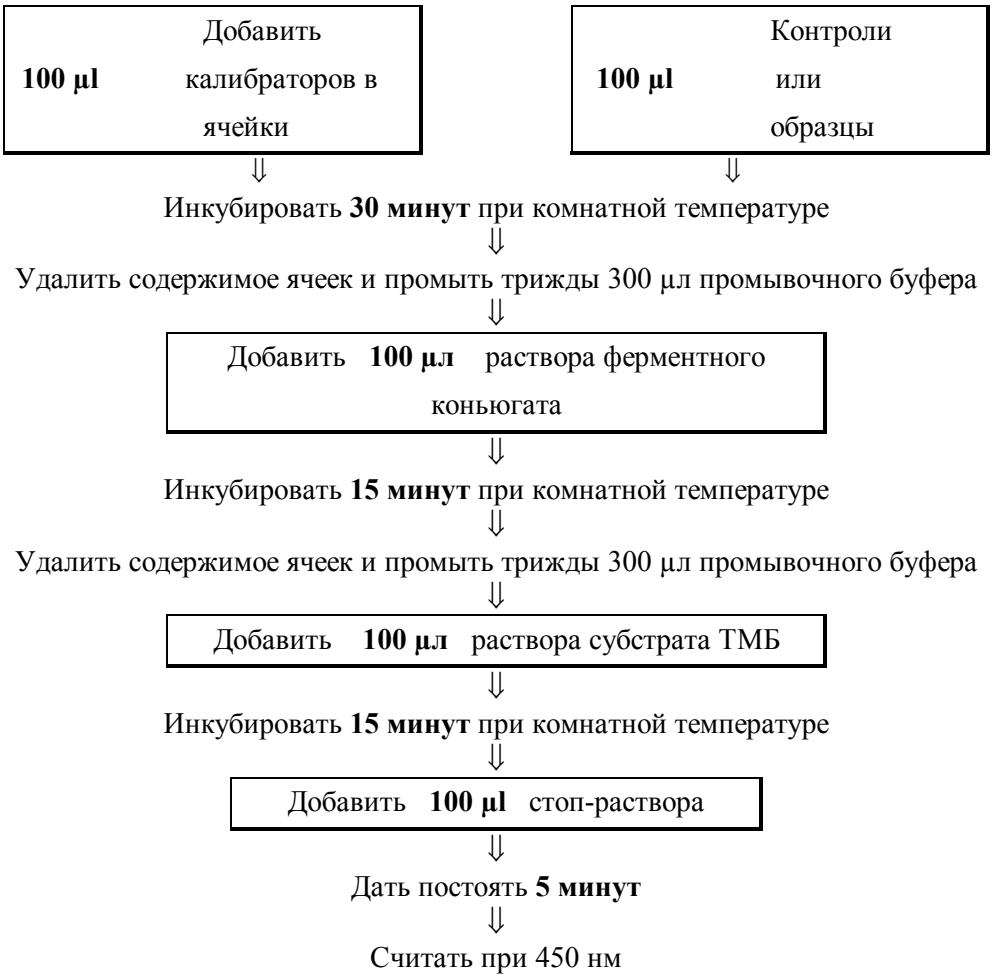
Интерференции
Не наблюдалась интерференция для следующих случаев:

Гемолиз	до 1000 мг/дл
Липемия	до 3 г/дл триглицеридов
Билирубин	до 40 мг/дл
Антикоагулянты	в принятых концентрациях

Однако на практике рекомендуется избегать сильно гемолизованных или липемичных образцов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ
Бета-2-Микроглобулин



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Micro-Albumin
96 тестов

Кат. № ORG 5MA

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор ORGENTEC Micro-Albumin предназначен для количественного определения альбумина. Этот метод предназначен только для диагностики *in vitro* микроальбуминурии.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Белки, проходящие через клубочковую базальную мембрану почек, подвергаются дифференциальной фильтрации. Проницаемость обратно пропорциональна молекулярному весу (альбумин около 0.6 %, миоглобин около 75 %). Тем не менее, только минимальные количества белков детектируются в моче, потому что большая часть белков реабсорбируется в канальцах. Повышенная клубочковая проницаемость для белков и большая тубулярная потеря плазменных белков могут быть дифференцированы при измерении распределения молекулярного веса элиминированных белков.

Структура элиминированных белков в моче дает информацию о:

- повышенной элиминации белков
- дифференциации протенурии
- предварительной диагностике нарушений почечной функции
- клубочковой или канальцевой протеинурии

Диагностические значимые белки:

- IgG (ММ 150,000)
- альбумин (ММ 66,000)
- альфа-1-микроглобулин (ММ 33,000)
- ретинол связывающий белок (ММ 21,000)
- бета-2-микроглобулин (ММ 12,000)
- легкие цепи иммуноглобулинов (белок Бенс-Джонса) (ММ 22,000)

Альбумин имеет относительную молекулярную массу 66,000 D. Он содержится в моче в очень малых концентрациях. В случае очень активного клубочкового процесса фильтрации секреция альбумина может возрастать без возникновения заболеваний почек. Этот симптом называется микроальбуминурией. Детектирование этих малых секретируемых количеств (от 30 до 150 µг/мин или мл) требует очень чувствительных тест-систем[1,6], то есть иммунологических технологий. Физический стресс также может вызывать повышенную секрецию альбумина без проявления заболеваний почек.

При диабете секреция альбумина - важнейший параметр для оценки функции почек. Значения в моче более 25 µг/мл свидетельствуют о нарушенной функции почек при инсулин-зависимом[2,3] (тип I) и инсулин-независимом[4,5,6] (тип II) диабете. Следовательно, определение альбумина - важный диагностический инструмент при диабетических нефропатиях[1,7,8].

Симптом : микроальбуминурия

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ячейки планшета покрыты высокоочищенным человеческим альбумином. Присутствующие в разведенной сыворотке антитела к этим антигенам связываются с иммобилизованными в микроячейках антигенами. При промывке удаляются все не связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке.

Антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена, иммунологически связываются со связавшимися в лунках антителами из сывороток пациентов, образуя комплекс конъюгат/антитело/антиген. Не связавшийся конъюгат удаляется при промывке. В присутствии связавшегося конъюгата ферментный субстрат гидролизуется с образованием голубого крашивания. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты, при этом раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность желтого окрашивания измеряется фотометрически при длине волны 450 нм. Интенсивность окраски обратно пропорциональна концентрации альбумина в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для разбавления образцов и промывочный буферный раствор) содержат азид натрия в качестве консервантов. Азид натрия (NaN_3) высоко токсичное и активное в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой он находится в компонентах набора, он не опасен. Несмотря на это производители набора настоятельно рекомендуют с осторожностью использовать набор (пп 8,9,10)
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. При смыве в канализацию рекомендуется разбавлять отходы большим количеством воды для снижения активного уровня.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8 Во время работы пользуйтесь одноразовыми перчатками и тщательно мойте руки после работы.
9 Не отбирайте образцы ртом
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить и пользоваться косметикой.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях для использования контролей и/или пулов сыворотки. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами крови следуйте локальным юридическим руководствам.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых высокоочищенным альбумином человека	1
Калибраторы микроальбумина в сывороточно-буферном матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)), содержащие: 0.15; 1.5; 6; 25; 100 и 400 мкг/мл человеческого альбумина. Готовы к использованию.	6 флаконов 0,5 мл каждый
Контроли микроальбумина в фосфатно-белковом матриксе (фосфатно-солевой буфер, БСА, NaN_3<0,1%(w/w)) (положительный и отрицательный), концентрации указаны на вкладыше к набору. Готовы к использованию.	2 флакона 0,5 мл каждый
Буфер образцов (Tris, NaN_3<0,1%(w/w)), желтый, готов к использованию.	1 флакон 10 мл
Раствор ферментного коньюгата (фосфатно-солевой буфер, PROCLIN 300<0,5%(v/v)) (светло-красный), содержащий поликлональные кроличьи античеловеческие антиальбуминовые-IgG антитела, меченые пероксидазой хрена. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов к использованию.	1 флакон 15 мл
Буферный промывочный раствор (фосфатно-солевой буфер, NaN_3<0,1%(w/w)), ***концентрат (50x)***	1 флакон 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1 Хранить при 2 - 8 °C
2 Ячейки микропланшета хранятся в пакете с осушителем
3 Компоненты набора стабильны до срока годности, указанного на этикетках.
4 Беречь реагенты от воздействия тепла, солнца и яркого света при хранении и использовании.
5 Буфер для образцов и промывочного буфера в разбавленном виде стабильны, по крайней мере, 30 дней при хранении при 2 - 8 °C

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер или пипетка для многократного дозирования объема 100 мкл
- Лабораторный таймер
- Пипетки на 10, 100 и 1000 µл
- Вортекс
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 100 и 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите утреннюю мочу.
2. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить при -20°C.
3. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания. Это может привести к потере активности альбумина.
4. Образцы мочи не требуют разведения. Если ожидаются высокие концентрации, образцы могут быть разбавлены буфером для образцов.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

1 Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28^{o}C).
4 Подготовьте все реагенты и образцы перед началом работы. Начав работать, выполняйте все шаги анализа без задержек для получения надежных и воспроизводимых результатов.
5 Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции.
6 Всегда используйте свежеразбавленные образцы.
7 Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации переносом образца в соседние ячейки – используйте одноразовые наконечники для каждого образца и реагента.
9 Качественная промывка принципиальна для результата анализа, удаляйте оставшиеся капли полностью после промывки.
10 Точно соблюдайте длительность инкубаций
11 Контрольные образцы или пулированные сыворотки анализируйте как неизвестные для проверки работы реагентов и выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки микропланшета.

Для всех контролей соответствующие концентрации указаны на этикетках флаконов. Используйте эти значения для построения калибровочной кривой, если хотите рассчитать результаты полуколичественно

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления.

МЕТОДИКА

1. Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки контролей (C), стандартов (S) и предварительно разбавленных проб пациентов (P) в дублях.

	1	2	3	4	5	6
a	SA	SE	P1	P5		
b	SA	SE	P1	P5		
c	SB	SF	P2	P…		
d	SB	SF	P2	P…		
e	SC	C1	P3			
f	SC	C1	P3			
g	SD	C2	P4			
h	SD	C2	P4			

SA – SF – стандарты A-F
P1, P2, … Образцы пациентов 1,2…
C1 – положительный контроль
C2 – отрицательный контроль

2. Добавьте в ячейки по **20 мкл** соответствующих калибраторов, контролей и предварительно разбавленных при необходимости образцов пациентов в ячейки.
3. Добавьте **100 µл** раствора ферментного коньюгата в каждую лунку.
4. Инкубируйте **30 минут** при комнатной температуре (18 - 28 °C).
5. Удалите содержимое микроячеек и трижды промойте **300 µл** промывочного раствора.
6. Добавьте **100 µл** раствора субстрата ТМБ в каждую ячейку.
7. Инкубируйте **15 минут** при комнатной температуре.
8. Добавьте **100 µл** стоп-раствора в каждую ячейку стрипов и позвольте постоять 5 минут.
9. Считайте оптическую плотность при **450 нм** и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600 - 690 нм.

Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин. Считайте оптическую плотность за это время.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если ОП при 450 нм Положительного контроля (1), Отрицательного контроля (2) и Калибраторов A и F полностью совпадают с соответствующими диапазонами, указанными 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 расчета результатов данного теста рекомендуется построение 4-параметрической кривой для оптической плотности и концентрации в линейно-логарифмических координатах. Также возможно использование логарифмических координат и аппроксимации гладким сплайном.

Рекомендуемый график в линейно-логарифмических координатах

Сначала рассчитайте среднюю оптическую плотность стандартов по результатам измерений в дублях и на линейно-логарифмической бумаге отложите рассчитанные средние значения ОП стандартов по оси Y, а соответствующие им значения концентрации стандартов - по оси X. Проведите оптимальную аппроксимирующую кривую между точками на графике либо просто соедините точки прямыми линиями. По построенной таким образом калибровочной кривой определите концентрации. Необходимо также учитывать разведение образцов.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Таблица, приведенная ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе при определении альбумина. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Стандарты (C)									
No	Лунка	ОП 1	ОП 2	Среднее	Конц 1 яч.	Конц 2 яч.	Среднее	Заявл. Конц.	CV %
CA	A 1/B 1	2.148	2.156	2.152	0.1	0.1	0.1	0.0	0
CB	C1/D 1	1.748	1.746	1.747	1.5	1.5	1.5	1.5	0
CC	E 1/F 1	1.221	1.244	1.233	6.4	6.1	6.2	6.0	1
CD	G1/H 1	0.700	0.687	0.694	23	24	24	25	1
CE	A 2/B 2	0.264	0.280	0.272	111	102	107	100	4
CF	C2/D 2	0.098	0.091	0.094	368	396	382	400	5

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

При изучении нормального диапазона значений образцов мочи фосфолипидам с использованием данного теста у здоровых доноров получен следующий диапазон:

пробы мочи: 0 - 25 мкг/мл альбумина

Рекомендуется каждой лаборатории устанавливать свои собственные нормальные и патологические диапазоны альбумина в моче.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

В экспериментах по разбавлению пробы мочи с высоким содержанием альбумина были разбавлены буфером образцов и проанализированы этим набором. Исследования показали линейность во всем измеряемом диапазоне.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Воспроизводимость
Статистические данные для коэффициентов вариации (CV) были рассчитаны для каждого из трех образцов в 24 определениях в одном опыте для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных опытов по 6 определений каждого образца:

Внутри серии		
Образец No	Значение x [µг/мл]	CV [%]
1	25.2	5.3
2	50.9	3.3
3	80.2	3.6

Между сериями		
Образец No	Значение x [µг/мл]	CV [%]
1	24.8	4.2
2	50.1	5.1
3	78.6	2.9

Чувствительность
Нижняя граница определения микроальбумина в моче определен как 0.5 мкг/мл.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Антисыворотка (кроличья, поликлональная) меченая пероксидазой, высокоспецифична к альбумину человека.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Данный набор ORGENTEC Micro-Albumin ELISA предназначен для диагностических целей. Однако окончательный диагноз не должен базироваться только на результатах одного теста, но должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bretzel, R.G.
Hypertonie, Mikroalbuminurie and Insulinresistenz bei Diabetes mellitus.
Wiener Klinische Wochenschrift 1994; 106: 774 - 792.

2. Diabetes and Endocrine Unit, Dudley Road Hospital, Birmingham, UK and Division of Community Health, Medical School, Guy`s Hospital, London, UK.
Microalbuminuria in type I diabetic patients. Prevalence and clinical characteristics.
Microalbuminuria Collaborative Study Group.
Diabetes Care 1992; 15: 495 - 501.

3. Walker, J.D. et al.
Glomerular structure in type-1 (insulin-dependent) diabetic patients with normomicroalbuminuria.
Kidney International 1992; 41: 741 - 748.

4. Mogensen, C.E.
Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes.
New England journal of medicine 1984; 310: 356 - 360.

5. Gall, M.A. et al.
Prevalence of micro- and macroalbuminuria, arterial hypertension, retinopathy and large vessel disease in European type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients.
Diabetologia 1991; 34: 655 - 661.

6. Bashyam, M.M. et al.
Microalbuminuria in NIDDM.
Diabetes Care 1993; 16: 634 - 635.

7. Caduff, F. et al.
Erfassung der Mikroalbuminurie als Marker for die beginnende diabetische Nephropathie in der Praxis: welche Urinsammelmethode ?
Schweizerische medizinische Wochenschrift 1991; 121: 324 - 331.

8. Ruilope, L.M. et al.
Randomly allocated study of the effects of standard therapy versus ACE inhibition on micro-albuminuria in essential hypertension.
Journal of Hypertension Suppl. 1994;12 (Suppl 4): S59 - S63.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Микроальбумин

Добавить **20 мкл** стандартов в микроячейки	Контроли **20 мкл** контролей или неразбавленных проб пациента

Добавить **100 мкл** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **30 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 мкл** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 мкл** стоп-раствора

Выдержать **5 минут**

Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Thyroglobulin

96 тестов.

Кат. Номер ORG 5TG

Инструкция пользователя

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке. **НАЗНАЧЕНИЕ**

Настоящий набор использует принцип непрямого твердофазного ИФА - ELISA. Он разработан для количественного измерения тиреоглобулина в образцах человеческой сыворотки или плазмы. Набор предназначен для диагностики различных тиреоидных заболеваний, таких как тиреоидиты и гипертиреоидизм.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Тиреоглобулин - многократно гликозилированный, растворимый в воде йодопротеин. Молекулярный вес около 660 кД делится на две идентичные субъединицы. Тиреоглобулин синтезируется в тиреоцитах щитовидной железы и секретируется в полость тиреоидных фолликулов. Здесь происходит йодирование тирозильных остатков тиреоглобулина, который становится, таким образом, предшественником тиреоидных гормонов Т3 и Т4. Наконец, свободные Т3 и Т4 освобождаются в циркуляцию из фолликулов вместе с малыми количествами тиреоглобулина. Подобно синтезу Т3 и Т4 синтез и секреция тиреоглобулина контролируется ТТГ и ТРГ. Супрессивная терапия с использованием тиреоидных гормонов также приводит к пониженным концентрациям тиреоглобулина в сыворотке.

Повышенные концентрации тиреоглобулина в сыворотке обнаруживаются при различных тиреоидных заболеваниях, таких, как

- гипертиреоз
- нетоксический зоб
- тиреоидиты
- дифференцированные тиреоидные карциномы

Определение тиреоглобулина - специальный прогностический инструмент у пациентов, леченных по поводу болезни Грейвса. Высокие уровни тиреоглобулина в конце тиреостатической терапии свидетельствуют о раннем рецидиве болезни, в то время как постоянно низкие уровни тиреоглобулина прогнозируют тенденцию к выздоровлению.

Основное применение для определения тиреоглобулина - постхирургический мониторинг пациентов с дифференцированными тиреоидными карциномами. После тиреоидэктомии, комбинированной с лучевой терапией для разрушения оставшихся тироидных тканей, можно ожидать промежуточный пик вслед за быстрым уменьшением концентрации циркулирующего тироглобулина ниже предела детектирования. Каждое возобновляющееся повышение тиреоглобулина в сыворотке означает наличие остаточной тиреоидной ткани - локальном рецидиве метастазов.

Благодаря легкости проведения мониторинга пациентов с тиреоидной карциномой определение тиреоглобулина - ценная неинвазивная альтернатива и дополнение к ^{131}I сцинтиографии.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Микроячейки покрыты высокоспецифичными античеловеческими антителами к тиреоглобулину. В ходе анализа тиреоглобулин образцов связывается с антителами, сорбированными в ячейках. Несвязавшиеся компоненты удаляются последующей промывкой. Коньюгат антитела к человеческому тиреоглобулину-пероксидаза хрена образует иммунный комплекс антитела/тиреоглобулин/конъюгат. Несвязавшийся ферментный коньюгат удаляется промывочным раствором. Хромогенный субстратный раствор, содержащий ТМБ, в присутствии ферментного комплекса гидролизуется, окрашивая раствор в голубой цвет. Развитие окраски останавливается добавлением кислоты в качестве стоп-раствора. Раствор меняет цвет на желтый. Интенсивность окраски измеряется фотометрически при 450 нм. Оптическая плотность прямо пропорциональна концентрации тиреоглобулина в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2 Не смешивайте компоненты наборов из различных лотов.
3 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.
4 Избегайте контакта с ТМБ (3,3`,5,5`-тетраметилбензидином). Если ТМБ попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5 Стоп-раствор содержит кислоту. Если раствор попал на кожу, тщательно промойте водой и обратитесь к врачу.
6 Некоторые реагенты (контроли, Буфер образцов и Буферный Промывочный раствор) содержат азид натрия в качестве консерванта. Азид натрия (NaN_3) – токсичное и взрывчатое в чистом виде вещество. В той концентрации, в которой азид содержится в реагентах набора, оно не представляет подобной опасности. Несмотря на это, мы рекомендуем строго придерживаться правил квалифицированной лабораторной практики (см. пп..8,9,10).
7 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. Смывайте отходы большим количеством воды для разбавления компонентов ниже активного уровня.
8 При работе с образцами и реагентами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
9 Не пипетируйте ртом.
10 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования этой инструкции. Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках для анализа контроля и/или пулов сыворотки.
11 Не допускайте контакта между буферным раствором перекиси и легко окисляемыми материалами; повышенная температура может вызывать спонтанное возгорание.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Контролируйте качество в соответствии с национальными руководствами по контролю с использованием контролей из набора и пулированных сывороток. В процессе обращения с компонентами набора, контролями и образцами сыворотки и плазмы соблюдайте принятые правила.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**96 тестов**
Разделяемый микропланшет, состоящий из 12 стрипов по 8 ячеек каждый, покрытых покрытых высокоспецифичными антителами к тиреоглобулину человека (кроличьими, поликлональными). Готов для использования.	1
Калибраторы тиреоглобулина в PBS/BSA буфере или сыворотке, содержащие: 0; 3; 10; 30; 100 и 300 нг/мл (ФСБ, БСА, NaN_3<0,1%(в/о)). Готовы для использования.	1 набор, 6 флаконов 1,5 мл каждый
Контроли тиреоглобулина в PBS/BSA буфере или сыворотке (ФСБ, БСА, NaN_3<0,1%(в/о)), желтый, (нормальный и повышенный), см. вкладыш со значениями. Готовы для использования.	1 набор, 2 флакона 1,5 мл каждый
Контроль тиреоглобулина на извлечение (ФСБ, БСА, NaN_3<0,1%(в/о)), содержит 50 нг/мл человеческого тиреоглобулина. Готов для использования.	1 флакон, 3 мл
Буфер образцов, желтый (Трис, NaN_3<0,1%(в/о)). Готов для использования	1 флакон, 15 мл
Раствор ферментного коньюгата (светло-красный), содержит поликлональные кроличьи антитела к человеческому тиреоглобулину, меченые пероксидазой хрена (ФСБ, Проклин 300<0,5%(о/о)). Готов для использования.	1 флакон, 15 мл
Раствор субстрата ТМБ. Готов для использования.	1 флакон, 15 мл
Стоп-раствор (10% раствор фосфорной кислоты). Готов для использования.	1 флакон, 15 мл
Буферный промывочный раствор (ФСБ, NaN_3<0,1%(в/о)), концентрат (50х)	1 флакон, 20 мл

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

1. Хранить при 2 - 8 °С.
2. Неиспользованные стрипы микропланшета должны храниться при 2 - 8 °С в хорошо закрытом пакете с осушителем.
3. Компоненты стабильны до срока годности набора.
4. Разбавленный Промывочный буфер стабилен, по крайней мере, 30 дней при 2 - 8 °С.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Микропланшетный ридер с длиной волны 450 нм
- Многоканальный диспенсер
- Вортекс
- Пипетки на 50, 100 и 1000 µл
- Таймер
- программное обеспечение для ридера

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерный цилиндр на 1000 мл
- пластиковый контейнер для хранения промывочного раствора

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Материал образца: сыворотка или плазма
Объем образца: 50 µл для одинарного определения
Общее время инкубации: 135 минут при комнатной температуре (18 - 28 °С)
Диапазон калибровки: 3 - 300 нг/мл
Чувствительность: 1 нг/мл
Хранение: охлаждение при 2 - 8 °С
Срок годности: 12 месяцев с момента изготовления или до указанного на этикетках срока годности
Формат набора: 96 тестов

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1 Соберите кровь обычной венопункцией в вакутейнеры, избегая гемолиза
2 Позвольте крови свернуться и отделите сыворотку от клеток центрифугированием после образования сгустка.
3 Сыворотка не должна содержать никаких примесей или быть гемолизированной. Лучше избегать гемолиза и липемии, хотя они не оказывают существенного влияния на этот анализ.
4 Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8°С по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения до шести месяцев образцы следует заморозить до -20°С. Д
5 Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания образцов, т.к. это может привести к потере активности.
6 Использование инактивированных теплом сывороток не рекомендуется.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1 Не используйте реагенты с истекшим сроком годности.
2 Не заменяйте компоненты набора компонентами из других лотов
3 Все компоненты перед использованием следует довести до комнатной температуры (20-28°С).
4 Подготовьте все необходимые реагенты и материалы заранее. Начав работу, не прерывайтесь, это принципиально для получения достоверных и воспроизводимых результатов.
5 Выполняйте все этапы только строго согласно указанной последовательности.
6 Всегда используйте свежее разведение образцов
7 Пипетируйте все реагенты прямо на дно ячеек.
8 Избегайте контаминации и переноса реагентов, используя для этого одноразовые наконечники для раскапывания образцов и реагентов и контролируя реакцию с помощью контролей.
9 Принципиально тщательно промывать ячейки и полностью удалять оставшиеся после промывки капли.
10 Строго соблюдайте сроки инкубации.
11 Контрольные образцы включайте в каждую постановку для проверки работы реагентов и правильности выполнения анализа.
12 Не используйте повторно ячейки

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление Буферного Промывочного Раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°С по крайней мере 30 дней после приготовления или до указанного для набора срока годности.

П Р О В Е Д Е Н И Е А Н А Л И З А

ТЕСТ НА ИЗВЛЕЧЕНИЕ

Присутствие антител к тиреоглобулину может мешать определению тиреоглобулина в сыворотке.
На поверхности молекулы тиреглобулина есть шесть иммуногенных эпитопов, с которыми могут связываться антитела с различными характеристиками связывания. Аутоантитела к этим эпитопам будут причиной ложно отрицательных результатов, связывая эндогенный тиреоглобулин. Следовательно, необходимо доказать присутствие аутоантител в образцах пациентов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Это может быть сделано либо прямым количественным измерением антител к тиреоглобулину или непрямым тестом на извлечение в сочетании с количественным определением тиреоглобулина. В этом тесте к пробе пациента добавляется экзогенный тиреоглобулин с определенной концентрацией. Извлечение экзогенного тиреоглобулина может быть рассчитано и может служить доказательством наличия аутоантител. Измерение дает корреляцию величин извлечения с концентрацией присутствующих антител. Для теста на извлечение образцы следует измерять дважды - прямое измерение и проба с добавленным тиреоглобулином (Тгл). Процент извлечения (% извл.) рассчитывается по формуле, приведенной ниже:

$$\% \text{ извл.} = \frac{\text{нг/мл Тгл (с К извл.)}}{\text{нг/мл Тгл (без К извл.)+50 нг/мл}} \times 100$$

замечание: К извл. - контроль на извлечение, он содержит 50 нг/мл тиреоглобулина человека.
Ожидаемый диапазон извлечения 80-120%. Если процент извлечения тиреоглобулина выше или ниже этих значений, значения тиреоглобулина соответствующего пациента для дальнейшей оценки должны быть исключены.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1.Приготовьте достаточное количество стрипов для постановки калибраторов, контролей, неразбавленных проб пациентов (P) и проб для тестов на извлечение (R) в дублях.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
a	SA	SE	P1	P3			SA – SF стандарты A - F					
b	SA	SE	P1	P3								
c	SB	SF	R1	R3			C1 и C2 – контроли отрицательный и положительный					
d	SB	SF	R1	R3								
e	SC	C1	P2	..			P1, P2 – образцы сывороток пациентов					
f	SC	C1	P2	..								
g	SD	C2	R2	..			R1, R2 – контроль извлечения образцов сывороток пациентов					
h	SD	C2	R2	..								

2. Добавьте в ячейки **50 мкл** стандартов, контролей и неразбавленных образцов пациентов в ячейки.
3.Добавьте **50 мкл Буфера образцов** к стандартам, контролям и образцам пациентов в ячейки P1, P2... Добавьте **50 мкл Контроля тиреоглобулина** на извлечение к образцам пациентов в ячейки R1, R2...
4.Инкубируйте 60 минут при комн. Т (20 - 28°C).
5.Удалите содержимое ячеек и трижды промойте **300 мкл** промывочного раствора.
6.Добавьте **100 мкл** раствора ферментного коньюгата в каждую ячейку.
7.Инкубируйте 60 минут при комнатной температуре.
8.Удалите содержимое ячеек и трижды промойте 300 мкл промывочного раствора.
9.Добавьте **100 мкл** субстрата ТМБ в каждую ячейку.
10.Инкубируйте 15 минут при комнатной температуре.
11.Добавьте **100 мкл** стоп-раствора в каждую ячейку и позвольте постоять 5 минут.
12.Считайте оптическую плотность при 450 нм и рассчитайте результаты. Рекомендуется бихроматическое считывание с фильтром сравнения 600-690 нм.
Развившаяся окраска стабильна в течение 30 мин.
Считайте оптическую плотность за это время.
Набор полностью пригоден для использования в автоматических иммуноферментных анализаторах открытого типа.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест достоверен при условии, что ОП контролей при 450 нм полностью соответствуют диапазонам, указанным в сертификате контроля качества к набору, вложенном в набор. Если условия не соблюдаются, анализ необходимо повторить.

Расчет результатов

Для данного набора рекомендуется 4-параметрическая регрессия с линейно-логарифмическими координатами для оптической плотности и концентрации.

Сначала рассчитайте средние оптические плотности для каждого стандарта. Используйте линейно-логарифмическую миллиметровую бумагу и отложите оптическую плотность против концентрации для каждого калибратора. Проведите оптимальную калибровочную кривую, используя все точки. Концентрация неизвестных образцов вычисляется интерполяцией.

ПРИМЕР РАСЧЕТА

Цифры и графики, показанные ниже - типичные результаты, полученные на этом наборе. Данные предназначены только для иллюстрации и не должны использоваться для расчета результатов других тестов.

Стандарты									
No Ст.	Ячейка	OD1	OD 2	среднее	конц 1	конц. 2	ср. конц	заявленная конц	CV %
STA	A1/B1	0.065	0.062	0.063	0.4	0.2	0.3	0	4
STB	C1/D1	0.117	0.111	0.114	2.8	2.5	2.6	3	4
STC	E1/F1	0.221	0.209	0.215	10	9	10	10	4
STD	G1/H1	0.421	0.451	0.436	29	32	31	30	5
STE	A2/B2	0.930	0.933	0.932	102	102	102	100	0
STF	C2/D2	1.759	1.780	1.769	298	304	301	300	1

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

В литературе сообщается о значениях cut-off для тиреоглобулина в сыворотке около 60 нг/мл с медианой от 5 до 10 нг/мл. У новорожденных и у беременных 3-его триместра могут наблюдаться высокие значения тиреоглобулина. Для правильной интерпретации концентраций тиреоглобулина необходима информация о иодообеспеченности организма. В регионах с эндемическим зобом уровни тиреоглобулина выше.
Настоящий набор дает значения тиреоглобулина у здоровых доноров от 2 до 50 нг/мл.
У пациентов с тотальной тироидэктомией после лучевой терапии тиреоглобулин не должен обнаруживаться. Любое повышение тиреоглобулина до детектируемых величин означает рецидив продукции тиреоглобулина в метастазах.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейность

В экспериментах по разбавлению проб сыворотки с высокими концентрациями тиреоглобулина были разбавлены буфером для образцов и проанализированы. Результаты показали линейность во всем измеряемом диапазоне.

Воспроизводимость

Статистика для коэффициентов корреляции (CV) была рассчитана для каждого из трех образцов в 24 определениях в одной постановке для оценки воспроизводимости внутри серии. Воспроизводимость между сериями оценивалась из результатов 5 различных анализов по 6 определений каждого образца:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Внутри серии		
Образец No	Значение [нг/мл]	CV [%]
1	33	1,9
2	93	2,4
3	227	3,2

Между сериями		
Образец No	Значение [нг/мл]	CV [%]
1	31	1,7
2	88	1,7
3	212	1,1

Чувствительность
Минимально определяемый предел для тиреоглобулина - 1,0 нг/мл.

Специфичность
Антисыворотка (поликлональная, кроличья), использованная для сорбции микропланшета и в ферментном коньюгате, высокоспецифична к молекуле человеческого тиреоглобулина.

КАЛИБРОВКА
Тест-система прокалибрована по Certified Reference Material CRM 457 из BCR, Брюссель, для человеческого тиреоглобулина.

Ограничения метода
Набор предназначен только как дополнительный метод для диагностики. Клинический диагноз не может основываться на результатах единственного теста, но может быть поставлен врачом только по совокупности клинических и лабораторных данных.

Интерференция
Не наблюдались перекрестные реакции в следующих условиях: сыворотка с гемолизом до 1000 мг/дл, липемией до 3 г/дл триглицеридов, билирубином до 4- мг/дл. Не наблюдались никакие интерферирующие влияния антикоагулянтов. Однако, по практическим причинам не рекомендуется использование гемолизованных или липемических образцов.

ЛИТЕРАТУРА
1. Marriq, S. et al. Polypeptide chains of 19-S thyroglobulin from several mammalian species and of porcine 27-S iodoprotein. Eur. J. Biochem. 1977; 79: 143 - 149.
2. Gärtner, D.F. et al.Evidence for autonomous thyroglobulin release from euthyroid and hyperthyroid nodular goiters - Thyroglobulin, a possible helpful parameter in diagnosis of non-malignant thyroid disorders. Klin. Wochenschr. 1983; 61: 737 - 741.
3. Gebel, F. et al.The site of leakage of intrafollicular thyroglobulin into the blood stream in simple human goiter.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 1983; 57: 915 - 919.
4. Uller, R.P. and van Herle, A.J. Effect of therapy on serum thyroglobulin levels in patients with Graves` disease. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1978; 46: 747 - 755.
5. Gardner, et al. Serum thyroglobulin in normal subjects and patients with hyperthyroidism due to Graves` disease: effects of T3, iodine, 131J, and antithyroid drugs. Clin. Endocr. (Oxf.) 1979; 11: 585 - 594.
6. Kawamura, S. et al. Serum thyroglobulin changes in patients with Graves` disease treated with long term antithyroid drug therapy. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1983; 56: 507 - 512.
7. Czernichow, P. et al. Plasma thyroglobulin measurements help determine the type of thyroid defect in congential hypothyrodism. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1983; 56: 242 - 245.
8. Mariotti, S. et al. Low serum thyroglobulin as a clue to the diagnosis of thyrotoxicosis factitia. New Engl. J. Med. 1982; 307: 410 - 412.
9. Reiners, C. Klinische Wertigkeit der Thyreoglobulinbestimmung im Serum. Akt. Endokr. Stoffw. 1984; 5: 76 - 82.
10. Kastrup, J. et al. An enzyme linked immunosorbent assay for measurement of human serum thyroglobulin. Evaluation of the influence of thyroglobulin auto-antibodies. Scand. J. Lab. Invest. 1985; 45: 471 - 476.
11. Feldt-Rasmussen, U. et al. Serum thyroglobulin (Tg) in presence of thyroglobulin autoantibodies (TgAb). Clinical and methodological relevance of the interaction between Tg and TgAb in vitro and in vivo. J. Endocrinol. Invest. 1985; 8: 571 - 576.
12. van Herle, A.J. and Uller, R.P. Elevated serum thyroglobulin: a marker of metestases in differentiated thyroid carcinomas. Clin. Invest. 1975; 56: 272 - 277.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

Тиреоглобулин

Добавить **50 µl** калибраторов и контролей	Добавить **50 µl** проб пациента	Добавить **50 µl** проб пациента для теста на извлечение
Добавить **50 µl** буфера для образцов	Добавить **50 µl** буфера для образцов	Добавить **50 µl** контроля на извлечение

Инкубировать **60 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µl** раствора ферментного коньюгата

Инкубировать **60 минут** при комнатной температуре

Удалить содержимое ячеек и трижды промыть 300 µл промывочного раствора

Добавить **100 µl** раствора субстрата ТМБ

Инкубировать **15 минут** при комнатной температуре

Добавить **100 µl** стоп-раствора

Оставить на **5 минут**

Считать при 450 нм

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Nucleo-9-Line

Кат. Номер ORG 711-08 8 стрипов
Кат. Номер ORG 711-16 16 стрипов

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Nucleo-9-Line набор, основанный на иммуноферментном анализе на мембране, для полуколичественного определения аутоантител класса IgG к ядерным антигенам: dsDNA, нуклеосома, SS-A, SS-B, RNP, Sm, центромера B, Jo-1 и Scl-70. Метод предназначен только для диагностики in vitro и должен использоваться только в целях диагностики ревматоидных аутоиммунных заболеваний.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Системные аутоиммунные заболевания клинически проявляются разнообразными симптомами. Их проявления в значительной степени совпадают. Для постановки правильного диагноза ревматоидных аутоиммунных заболеваний необходимо выявить пациентов с проявлениями аутоиммуннитета. Присутствие аутоантител к антигенам, в норме недоступным, (цитоплазматическим, нуклеоплазмы, ядерного матрикса и ядрышек) является одним из признаков системных аутоиммунных заболеваний (Tan, 1988; Sturgess, 1992). Все в большей степени становится очевидным, что системные заболевания могут быть подразделены на основании профиля их антиядерных антител (ANA). Существует четкая корреляция между профилем ANA и специфическим заболеванием, делающая его идеальным диагностическим маркером (Mongey and Hess,1991; Von Muhlen, 1995). Кроме того, при определении ANA методом непрямой иммунофлуоресценции (IFA, ИФлА) на клетках линии HEp-2, рекомендуется и требуется дополнительная иммунологическая дифференциация (Pollock, 1999; Tan et al., 1997), по различным причинам:

- множественная специфичность 50% IFA-положительных сывороток;
- «здоровые» индивидуумы могут быть IFA-положительными, но при этом давать отрицательные результаты для диагностически значимых аутоантител
- отрицательный результат IFA не исключает наличия экстрагируемых ядерных антигенных (ENA) специфичностей
- Коэффициент вариации теста IFA в различных лабораториях составляет 36-51% (Tan et al., 1997).

Превосходная чувствительность и специфичность метода иммуноблота достигается использованием очищенных нативных или рекомбинантных антигенов и делает его важным диагностическим инструментом детекции ANA в клинической лаборатории (Carey, 1997). Ассоциация наиболее часто встречающихся антиядерных антител (ANAs) с различными заболеваниями:

Специфичность антител	Ассоциированное заболевание
dsDNA	SLE
Нуклеосомы	SLE
SS-A	SS, SLE (20-30%), NL
SS-B	SLE, SS
U1-RNP	SLE
Рибосомальный протеин P	SLE (иногда ассоциируется с психоневрологическими заболеваниями)
Центромера B	CREST
Jo-1	полимиозит/дерматомиозит
Scl-70	склеродермия

SLE - системная красная волчанка; MCTD- смешанные заболевания соединительной ткани; RA- ревматоидный артрит; SS- синдром Шегрена; NL- неонатальная волчанка; CREST - разновидность склеродермии в виде кальциноза, синдрома Рейно, дисфункции пищевода, склеродактилии и телеангиэктозии.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Особо чистые препараты антигенов иммобилизованы на стрипах нитроцеллюлозной мембраны. Антитела к этим антигенам, присутствующие в разведенной сыворотке, связываются с мембраной. При промывке с мембранных стрипов удаляются несвязавшиеся антитела. Щелочная фосфатаза, конъюгированная с антителами к IgG человека иммунологически связывается с антителами, присутствовавшими в сыворотке пациентов и связавшимися на мембране с антигеном. При этом образуется комплекс конъюгат/антитела/антиген. При промывке с мембранных стрипов удаляются несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием нерастворимого сине-фиолетового продукта. При промывке с мембранных стрипов удаляется не гидролизовавшийся субстрат. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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 мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с BCIP/NBT (5-бром-4-хлор-3-индолил фосфат / р-нитро голубой тетразол хлорид. Если BCIP/NBT попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. Он способен образовывать взрывоопасные соединения при длительном контакте с медью или свинцом. При использовании реагентов, содержащих азид натрия, необходимо наличие большого количества воды. Азид натрия может быть токсичен при попадании внутрь организма. В концентрациях, присутствующих в реагентах, он не токсичен. Несмотря на классификацию как нетоксичного вещества, мы настоятельно рекомендуем следовать обычной лабораторной практике обращения с опасными веществами (см. 7, 8, 9).
6. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При выливании реагентов, содержащих Proclin 300, необходимо смывать большим количеством воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
7. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
8. Не отбирайте образцы ртом
9. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить

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.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**8 или 16 тестов**
Нитроцеллюлозные стрипы с иммобилизованными на них особо чистыми препаратами нативных или рекомбинантных ядерных антигенов. Готовы к использованию.	**8 или 16**
Буфер для образцов, готов к использованию.	1 флакон 20 мл
Буфер промывочный, ***концентрат 50*x**	1 флакон 20 мл
Раствор (PBS, NaN3 <0.1 % (w/w)) ферментного коньюгата (розовый), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG антитела, меченые щелочной фосфатазой. Готовы к использованию.	1 флакон 20 мл
Раствор субстрата (BCIP/NBT). Готов к использованию.	1или 2 флакона, 10 мл
Предобработанные калибровочные нитроцеллюлозные стрипы (обозначены «CAL») для полуколичественного анализа. Готовы к использованию	1 или 2
Емкости для инкубации	1или 2
Листы данных. Готовы к использованию.	1или 2

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C в их оригинальной упаковке
2. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
4. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.
5. Разведенные буфер для промывок и буфер для образцов стабильны при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.
6. Разбавленный Промывочный буфер стабилен, по крайней мере, 30 дней при 2 - 8 °C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Пипетки на 10, 500 и 1000 мкл
- Качающаяся платформа
- Пинцет
- Лабораторный таймер

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 1000 мл

СБОР, ПОДГОТОВКА И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови, используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Для предотвращения переходящей контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8. С нитроцеллюлозными стрипами необходимо работать в перчатках или с помощью пинцета.
9. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
10. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.
11. Необходимо убедиться, что во время инкубации не происходит образование воздушных пузырьков. Это может привести к неравномерной окраске и, как следствие, неверным результатам.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для промывок
Разбавьте содержимое каждого флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

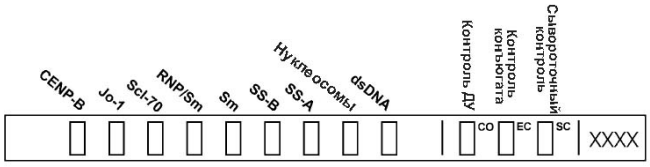
ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА
1. Используя пинцет, поместите Nucleo-9-Line стрипы и добавьте по 1.0 мл буфера для образцов в каждую камеру инкубационной емкости. Аккуратно покачивайте в течение 5 минут для равномерного распределения.
2. Внесите по 10 мкл образцов сывороток пациентов непосредственно в камеры (конечное разведение 1:101).
3. Инкубируйте 60 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
4. Осторожно удалите разведенную сыворотку со стрипов, полностью.
5. Внесите по 2.0 мл буфера для промывок, инкубируйте 5 минут, затем удалите, как в шаге 4. Повторите эту процедуру дважды.
6. Внесите по 1.0 мл ферментного конъюгата в каждую камеру. 7. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
8. Осторожно удалите ферментный конъюгат со стрипов, полностью.
9. Внесите по 2.0 мл буфера для промывок, инкубируйте 5 минут, затем удалите, как в шаге 4. Повторите эту процедуру дважды.
10. Внесите по 1.0 мл субстрата на каждый стрип.
11. Инкубируйте 10 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
12. Удалите субстрат и промойте стрипы дистиллированной водой, три раза по 5 минут каждый для остановки реакции.
13. Осторожно высушите стрипы с помощью фильтровальной бумаги.
14. Перед оценкой дайте стрипам высохнуть на воздухе.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА
Данный тест считается действительным только в случае, если Контрольная сыворотка (первая линия), контроль коньюгата (вторая линия) и контроль дискриминационного уровня (ДУ, третья линия) показали превращение субстрата с образованием окрашенных полос! Если эти критерии не выполнены, результаты должны быть признаны недействительными и тест необходимо повторить.

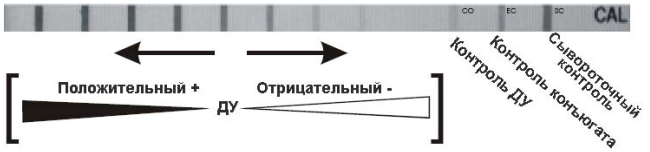
ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Nucleo-9 Orgentec

Антигены расположены на мембране в порядке, указанном на рисунке:



Проявившиеся линии должны сравниваться с калибровочным стрипом следующим образом:
1. Сравните линию контроля ДУ стрипа, на котором проводился анализ сыворотки пациента, с калибровочными линиями на калибровочном стрипе для корректировки.
2. Сравните линии стрипа, на котором проводился анализ сыворотки пациента, с калибровочными линиями, задавая контроль ДУ, для полуколичественного анализа.



Замечания:
1. Данный полуколичественный метод определения специфичности антител позволяет различать отрицательный, пограничный, слабо положительный, положительный и строго положительный результаты. Образцы, для которых получен пограничный результат, должны быть проанализированы еще раз этим или каким-либо альтернативным методом.
2. Сыворотка пациентов с ревматоидными аутоиммунными заболеваниями часто содержит аутоантитела нескольких специфичностей. Такая сыворотка может давать положительную реакцию больше, чем с одним антигеном (больше, чем с одной антигенной полосой).

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Оценка качества данного метода Nucleo-9 Line проводилась с тестированием сывороток пациентов с известной специфичностью и сывороток здоровых доноров, при этом использовалась стандартная процедура, описанная в данной инструкции. Все сыворотки здоровых доноров дали отрицательные результаты для всех антигенных специфичностей.

КАЛИБРОВКА
Тестирование CDC-сывороток с использованием протокола, разработанного Tan et al. (1999) Arthritis & Rheumatism 42, 455-464.
Чувствительность, специфичность и зависимость от дозы для данного метода Nucleo-9-Line иммуноблот оценивали, используя CDC-сыворотки и внутренние контрольные сыворотки, содержащие различные относительные количества сывороток с известными специфичностями**.**

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Данный метод Nucleo-9 Line может быть использован в диагностических целях, но окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах только

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

данного теста, но на совокупности всех данных клинического и лабораторного обследований.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

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.

ЛИТЕРАТУРА

1. Carey, JL. (1997) Enzyme immunoassays for antinuclear antibodies. Clin Lab Med. 17, 355-365.
2. Ermens AAM, Bayens AJM, van Gemert ACM, van Duijnhoven JLP. (1997) Simple dot-blot method evaluation for detection of antibodies against extractable nuclear antigens. Clin. Chem., 43: 2420-2422.
3. Mongey, A-B and Hess, EV (1991) Antinuclear antibodies and disease specificity. Adv. Int Med. 36, 151-169.
4. Paxton, H., Bendele, T., O'Connor, L., & Haynes, D.C. (1990). Evaluation of the RheumaStrip ANA profile test: a rapid test strip procedure for simultaneously determining antibodies to autoantigens U1-ribonucleoprotein (U1-RNP), Sm, SS-A/Ro, SS-B/La, and to native DNA. Clin Chem, 36, 792-797.
5. Pollock, W and Toh, BH (1999) Routine immunofluorescence detection of Ro/SSA autoantibody using Hep-2 cells transfected with human 60kDa Ro/SS-A. J Clin Pathol. 52, 684-687.
6. Sturgess, A. (1992) Recently characterised autoantibodies and their clinical significance. Austr. NZ J Med., 22, 279-289.
7. Tan, E.M., Chan, E.K., Sullivan, K.F., & Rubin, R.L. (1988). Antinuclear antibodies (ANAs): diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. Clin Immunol Immunopathol, 47, 121-141.
8. Tan, E.M., Feltkamp, T.E.W., Smolen, J.S., Butcher, B., Dawkins, R., Fritzler, M.J. (1997) Range of antinuclear antibodies in "healthy" individuals. Arthritis Rheum. 40, 1601-1611.
9. Tan, E.M., Smolen, J.S., McDougal, J.S., Butcher, B.T., Conn, D., Dawkins, R., Fritzler, M.J., Gordon, T., Hardin, J.A., Kalden, J.R., Lahita, R.G., Maini, R.N., Rothfield, N.F., Smeenk, R., Takasaki, Y., van Venrooij, W.J., Wiik, A., Wilson, M., & Koziol, J.A. (1999). A critical evaluation of enzyme immunoassays for detection of antinuclear autoantibodies of defined specificities. I. Precision, sensitivity, and specificity. Arthritis Rheum, 42, 455-464.
10. Von Muhlen CA and Tan EM (1995) Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. Semin Arthritis Rheum 24, 323-358.

Nucleo-9 Orgentec

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

1. Положите **стрип** в инкубационную камеру

Внесите **1000 мкл** буфера для образцов в каждую камеру инкубационной емкости.

покачивайте в течение **5 минут** для равномерного распределения.

2. Добавьте по **10 мкл** образца на стрип и перемешайте

Инкубируйте **60 мин**. при покачивании

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 1000 мкл по 5 минут** промывочным буфером. Удалите промывочный буфер

3. Добавьте по **1000 мкл** раствора ферментного конъюгата

Инкубируйте **30 мин**. при покачивании

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 1000 мкл по 5 минут** промывочным буфером. Удалите промывочный буфер

4. Добавьте по **500 мкл** субстрата на стрип

Инкубируйте **10 мин**. при покачивании

Удалите содержимое ячеек и **трижды промойте 1000 мкл по 5 минут** дистиллированной водой.

Высушите стрипы.

Считайте результаты только после полного высыхания.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ANA-9-Line

Кат. № ORG 710-08 8 стрипов
Кат. № ORG 710-16 16 стрипов

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для полуколичественного определения аутоантител класса G к экстрагируемым ядерным антигенам (ENAs): SS-A 52, SS-A 60, SS-B, RNP, Sm, центромера B, Jo-1, Scl-70 и рибосомальные белки. Анализ предназначен для диагностики *in vitro* аутоиммунных заболеваний.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Системные аутоиммунные заболевания мультифакторны в клинических проявлениях и имеют большое количество сходных симптомов. Для диагностики аутоиммунных ревматических заболеваний с целью чёткой интерпретации результатов необходимо ограничить группу больных только пациентами с очевидными признаками аутоиммунного заболевания. Присутствие аутоантител против обычно недоступных антигенов (цитоплазмы, нуклеоплазмы, ядерного матрикса и нуклеосом) - фактически один из признаков системного аутоиммунного заболевания (Tan, 1988; Sturgess, 1992).

В последнее время выяснилось, что системные заболевания можно дифференцировать по их профилю антиядерных антител (ANA). Существует тесная корреляция между профилем присутствующих ANA и конкретным заболеванием, что делает их идеальным диагностическим маркером (Mongey и Hess, 1991; Von Muhlen, 1995).

Кроме того, при детекции ANA с использованием теста непрямой иммунофлуоресценции (IFA) на HEp-2 клетках рекомендуется или необходима дальнейшая иммунологическая дифференцировка (Pollock, 1999; Tan и другие, 1997) по причинам:

- различной специфичности половины (50%) IFA-положительных сывороток;
- образцы от «здоровых лиц», положительные в IFA-тесте, отрицательны при анализе диагностически значимых специфических антител;
- отрицательный IFA-тест не исключает наличия некоторых специфических антител к экстрагируемым ядерным антигенам (ENA);
- вариабельность интерпретации IFA-теста между лабораториями находится в пределах 36-51% коэффициента вариации (Tan и другие, 1997).

Превосходные чувствительность и специфичность системы иммуноблот достигаются благодаря использованию очищенных или рекомбинантных антигенов и делают этот метод важным диагностическим инструментом в клинической лаборатории для обнаружения ANA (Carey, 1997).

Наиболее распространённые ассоциированные с наличием ANA болезни:

Тип специфических антител	**Ассоциированное заболевание**
Jo-1	Полимиозит/дерматомиозит
Scl-70	Склеродермия
CENP-B	CREST-синдром
SS-A/RO	SS, СКВ (20-30) %, HB, PA
SS-B/LA	СКВ, SS
U1-RNP	СКВ, СЗСС
SmBB ', SmD	СКВ
Рибосомальные белки	СКВ (иногда этот вид антител связывают с нейропсихическими заболеваниями)

Сокращения: СКВ – системная красная волчанка; СЗСС – смешанное заболевание соединительной ткани; PA-ревматоидный артрит; SS – синдром Шегрена; HB-неонатальная волчанка; CREST-синдром – синдром, включающий кальциноз (C), феномен Рейно (R), нарушение моторики пищевода (E), склеродактилию (S) и телеангиэктазию (T).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Высоко очищенные экстрагированные ядерные антигены связаны с нитроцеллюлозной мембраной в форме полосок. Антитела к этим антигенам, присутствующие в образце, связываются с мембраной. Последующая промывка удаляет несвязавшиеся антитела. Щелочная фосфатаза, конъюгированная с антителами против IgG человека, связывается со связавшимися с антигенами на мембране антителами из образца пациента, формируя иммунный комплекс конъюгат/антитела/антиген. Последующая промывка удаляет несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат в присутствии связанного конъюгата гидролизуется с образованием нерастворимого продукта, окрашенного в сине-фиолетовый цвет. Последующая промывка удаляет негидролизованный субстрат. Интенсивность цветной окраски каждой антигенной полоски пропорциональна концентрации антинуклеарных IgG-антител, присутствующих в образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1 Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2 Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3 Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие антител к гепатиту B и ВИЧ. Однако ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами и образцами крови (цельными и разбавленными) следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4 Избегайте контакта с субстратным раствором.
5 Азид натрия используется в качестве консерванта в Разбавляющем буфере и Промывочном растворе. Азид натрия – высоко токсичное и активно реагирующее в чистом виде вещество. В концентрации, в которой данное вещество присутствует в реагентах набора, оно не так опасно. Несмотря на классификацию реагентов как неопасных, мы настоятельно рекомендуем следовать правилам лабораторной техники безопасности (смотрите пп 6, 7, 8).
6 Некоторые компоненты набора содержат Проклин 300 в качестве консерванта. Смывайте отходы большим количеством воды после использования, чтобы снизить концентрацию реагентов ниже активной.
7 При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
8 Не пипетируйте ртом.

www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

9 В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить, курить и пользоваться косметикой.

Посмотрите руководства по выполнению контроля качества в медицинских лабораториях и используйте в постановках контроли и/или пулы сыворотки.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Нитроцеллюлозные стрипы, каждый содержит 9 очищенных или рекомбинантных антигенов и 2 контроля. Готовы для использования.	8 или 16
Разбавляющий буфер для образцов. Готов для использования.	1 флакон, 20 мл
Буферный промывочный раствор, ***концентрат***, 50х	1 флакон, 20 мл
Ферментный коньюгат, содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие анти-IgG антитела, меченые щелочной фосфатазой (содержит фосфатно-солевой буфер, NaN_3 <0,1 % (w/w), розового цвета). Готов для использования.	1 флакон, 20 мл
Субстратный раствор. Готов для использования.	1 или 2 флакона, 10 мл
Нитроцеллюлозный калибровочный стрип (меченый CAL) для полуколичественной оценки.	1 или 2
Вместе с набором поставляются ванночки с инкубационными камерами для стрипов	1 или 2
Бланк-трафарет для учёта результатов анализа	1 или 2

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1 Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C.
2 Храните стрипы в плотно закрытом пакете с осушителем.
3 ВАЖНО! Храните стрипы в темноте!
4 Необходимо контролировать сроки годности, проставленные на этикетках коробок и флаконов.
5 Не оставляйте реагенты на свету и вблизи источников тепла во время использования и хранения.
6 Разбавленный Промывочный раствор стабилен по крайней мере 30 дней при хранении при 2-8°C.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Пипетки на 10, 500 и 1000 мкл с наконечниками
- Хронометр
- Качающаяся платформа
- Пинцеты

Приготовление

- Дистиллированная вода
- Цилиндр на 1000 мл

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для анализа предпочтительна сыворотка крови. Соберите кровь асептически обычной венопункцией в стерильный вакутейнер или другим подходящим способом. После образования сгустка при комнатной температуре отделите сыворотку от клеток центрифугированием как можно скорее, чтобы избежать гемолиза.

Избегайте использования липемичных или гемолизированных сывороток.

Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8°C 5 дней. Для более длительного хранения (6 месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.

Не рекомендуется использование инактивированной теплом сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.

Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры перед использованием (20-28°C) и хорошо перемешайте их.

Все реагенты и образцы должны быть готовы до начала анализа. Начав выполнять анализ, работайте без задержек, чтобы результаты были достоверными.

Строго следуйте указанной последовательности выполнения шагов протокола.

Всегда используйте только свежеразбавленные образцы.

Используйте одноразовые наконечники для пипеток во время анализа, чтобы избежать контаминации при внесении реагентов.

Нитроцеллюлозные стрипы необходимо брать либо в перчатках либо пинцетом.

Все инкубации должны быть строго рассчитаны по времени.

Контрольные образцы и образцы пула сывороток анализируйте как неизвестные.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буферного промывочного раствора

Разбавьте содержимое флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до даты, указанной на этикетке флакона.

ПРОЦЕДУРА ИММУНОБЛОТА

МЕТОДИКА

1. Осторожно вставьте стрип с помощью пинцета в инкубационную камеру, затем добавьте 1,0 мл Разбавляющего буфера для образцов в каждую камеру. Позвольте системе уравновеситься в течение 5 минут при медленном покачивании.
2. Добавьте 10 мкл сыворотки пациента прямо в инкубационную камеру (конечное разведение 1:101).
3. Инкубируйте в течение 60 минут в условиях медленного покачивания при комнатной температуре.
4. Осторожно полностью удалите раствор со стрипов.
5. Добавьте 2.0 мл Промывочного буфера, инкубируйте в течение 5 минут, затем удалите как в шаге 4.

Повторите эту процедуру дважды.

6. Добавьте 1,0 мл Ферментного конъюгата в каждую инкубационную камеру.
7. Инкубируйте в течение 30 минут в условиях медленного покачивания при комнатной температуре.
8. Полностью удалите раствор конъюгата со стрипа.
9. Добавьте 2.0 мл Промывочного буфера, инкубируйте в течение 5 минут, затем удалите как в шаге 4.

Повторите эту процедуру дважды.

10. Добавьте 1.0 мл Субстратного раствора на каждый стрип.
11. Инкубируйте в течение 10 минут в условиях медленного покачивания при комнатной температуре.
12. Удалите Субстрат и промойте стрипы дистиллированной водой три раза, замачивая на 5 минут каждый раз для остановки реакции.
13. Осторожно просушите стрипы промакиванием на бумажном полотенце.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

14. Позвольте стрипам полностью высохнуть на воздухе перед оценкой результатов.

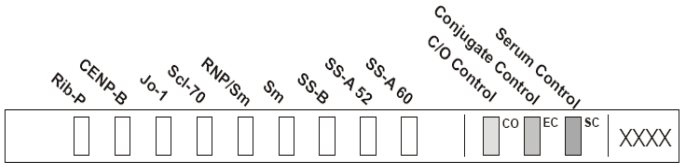
ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

Тест достоверен при условии, что Сывороточный контроль (первая полоса), Контроль конъюгата (вторая полоса) и Cut-Off контроль (третья полоса) изменили цвет в пределах реактивной полосы. Если эти критерии не выполнены, результат недействителен и анализ необходимо повторить.

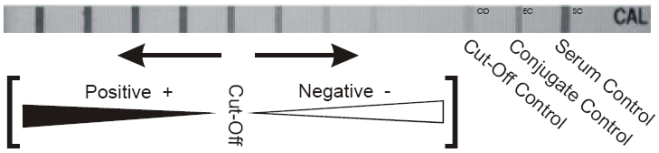
Интерпретация результатов

Антигены сорбированы на мембране в порядке, показанном на рисунке ниже.



Окраска полос сравнивается с окраской полос Калибровочного стрипа следующим образом:

1. Сравните полосу Cut-Off контроля на рабочем стрипе с полосой Cut-Off контроля Калибровочного стрипа.
2. Сравните полосы, сорбированные антигенами, на рабочем стрипе с калибровочными полосами на Калибровочном стрипе для полуколичественной оценки.



Замечания по интерпретации результатов пациентов:

1. Этот тест - полуколичественный анализ для определения специфических аутоантител в сыворотке пациентов, позволяющий различать отрицательные, пограничные, слабо положительные, положительные и высоко положительные результаты. Образцы с пограничными результатами необходимо проанализировать повторно или проверить альтернативными методами.
2. Сыворотка пациентов со многими аутоиммунными ревматологическими заболеваниями часто содержит специфические аутоантитела одновременно ко многим аутоантигенам Такой конкретный образец может дать положительную реакцию с более чем одной полосой в этом анализе.

ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

АНТИГЕННАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Данный набор ANA-9 был оценен на образцах от пациентов, содержащих антитела известной специфичности и образцах, полученных от доноров, в одном общем исследовании. Все донорские образцы дали отрицательные полосы для всех антигенных специфичностей.

КАЛИБРОВКА

Для тестирования CDC-сывороток использовался протокол, предложенный Tan и другими (1999) Arthritis & Rheumatism 42, 455-464.

Чувствительность, специфичность и доза/ответ ANA-9-LINE Immunoblot были оценены в испытательных образцах - смесях CDC-сывороток, содержащих различные относительные количества сывороток с известными специфичностями.

ОГРАНИЧЕНИЯ АНАЛИЗА

ANA-9-Line immunoblot – тест, предназначенный для дополнительной диагностики, и не должен использоваться отдельно. Конкретный клинический диагноз не должен быть основан на результатах единственного теста, но только на оценке совокупности всех клинических и лабораторных результатов.

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Не наблюдалась интерференция в образцах сыворотки с гемолизом (до 1000 мг/дл), липемичными образцами (до 3 г/дл триглицеридов) или билирубином (до 40 мг/дл). Не отмечена интереференция с наличием в образцах антикоагулянтов. Тем не менее, не рекомендуется использовать сильно гемолизованные или липемичные образцы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Carey, JL. (1997) Enzyme immunoassays for antinuclear antibodies. Clin Lab Med. 17, 355-365.
2. Ermens AAM, Bayens AJM, van Gemert ACM, van Duijnhoven JLP. (1997) Simple dot-blot
method evaluation for detection of antibodies against extractable nuclear antigens. Clin. Chem.,
43: 2420-2422.
3. Mongey, A-B and Hess, EV (1991) Antinuclear antibodies and disease specificity. Adv. Int Med.
36, 151-169.
4. Paxton, H., Bendele, T., O'Connor, L., & Haynes, D.C. (1990). Evaluation of the RheumaStrip
ANA profile test: a rapid test strip procedure for simultaneously determining antibodies to
autoantigens U1-ribonucleoprotein (U1-RNP), Sm, SS-A/Ro, SS-B/La, and to native DNA. Clin
Chem, 36, 792-797.
5. Pollock, W and Toh, BH (1999) Routine immunofluorescence detection of Ro/SSA autoantibody
using Hep-2 cells transfected with human 60kDa Ro/SS-A. J Clin Pathol. 52, 684-687.
6. Sturgess, A. (1992) Recently characterised autoantibodies and their clinical significance. Austr
NZ, J Med., 22, 279-289.
7. Tan, E.M., Chan, E.K., Sullivan, K.F., & Rubin, R.L. (1988). Antinuclear antibodies (ANAs):
diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic
autoimmunity. Clin Immunol Immunopathol, 47, 121-141.
8. Tan, E.M., Feltkamp, T.E.W., Smolen, J.S., Butcher, B., Dawkins, R., Fritzler, M.J. (1997) Range
of antinuclear antibodies in "healthy" individuals. Arthritis Rheum. 40, 1601-1611.
9. Tan, E.M., Smolen, J.S., McDougal, J.S., Butcher, B.T., Conn, D., Dawkins, R., Fritzler, M.J.,
Gordon, T., Hardin, J.A., Kalden, J.R., Lahita, R.G., Maini, R.N., Rothfield, N.F., Smeenk, R.,
Takasaki, Y., van Venrooij, W.J., Wiik, A., Wilson, M., & Koziol, J.A. (1999). A critical evaluation of
enzyme immunoassays for detection of antinuclear autoantibodies of defined specificities. I.

www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Precision, sensitivity, and specificity. Arthritis Rheum, 42, 455-464.
10. Von Muhlen CA and Tan EM (1995) Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic
diseases. Semin Arthritis Rheum 24, 323-358.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

ANA – 9 - Line

1

Вставьте блот-стрип в инкубационную камеру.

→ **Добавьте 1000 мкл Разбавляющего буфера для образцов в инкубационную камеру.**

→ **Инкубируйте с перемешиванием в течение 5 минут.**

2

Добавьте 10 мкл сыворотки пациента и ресуспедируйте.

→ **Инкубируйте с перемешиванием в течение 60 минут.**

→ **Удалите реакционную смесь и промойте 3 раза по 5 минут 1000 мкл Промывочного буфера, удалите Промывочный буфер.**

3

Добавьте 1000 мкл Ферментного конъюгата на стрип и ресуспендируйте.

→ **Инкубируйте с перемешиванием в течение 30 минут.**

→ **Удалите реакционную смесь и промойте 3 раза по 5 минут 1000 мкл Промывочного буфера, удалите Промывочный буфер.**

4

Добавьте 500 мкл Субстрата на стрип

→ **Инкубируйте с перемешиванием в течение 10 минут**

→ **Удалите реакционную смесь и промойте 3 раза по 5 минут 1000 мкл дистиллированной воды, высушите блот-стрип.**

Считайте результаты только после полного высыхания стрипа.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Gastro-5-Line

Кат. Номер 740-08 8 стрипов
Кат. Номер 740-16 16 стрипов

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Gastro-5-Line - набор, основанный на иммуноферментном анализе, для полуколичественного определения аутоантител классов IgG и IgA к внутреннему фактору, париетальным клеткам, тканевой трансглютаминазе, Saccharomyces cerevisiae (ASCA) и глиадину. Метод предназначен только для диагностики in vitro и должен использоваться только в целях диагностики желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Каждый отдел ЖКТ склонен к своим собственным уникальным заболеваниям. Болезнь Крона, целиакия, язвенные колиты и злокачественная анемия являются четырьмя наиболее серьезными диагнозами, которые отражают длительные тенденции заболеваний пищеварительного тракта.

Заболевания пищеварительного тракта имеют иммунную природу, с увеличением проницаемости пищеварительного тракта, и ассоциированы с большим перечнем иммунных заболеваний человека в целом. Симптомы при таких условиях могут проявляться у пациентов за много лет до постановки диагноза.

Внутренний фактор

Аутоантитела к сывороточному внутреннему фактору могут определяться в 50 - 70% случаев у пациентов при злокачественной анемии и они высокоспецифичные для анемии Biermer, при этом пока не документировано ни одного случая истинно положительного результата в контрольной группе здоровых [1]. Существуют два типа аутоантител к внутреннему фактору [2]. Тип I аутоантител блокирует на молекуле внутреннего фактора сайт связывания с кобаламином, мешай захвату витамина. Тип II аутоантител блокирует другой сайт на молекуле внутреннего фактора, который вовлечен в связывание комплекса внутренний фактор/кобаламин с рецепторами подвздошной кишки. Оба типа аутоантител приводят к одинаковому патологическому эффекту, мешая всасыванию кобаламина рецепторами подвздошной кишки.

Париетальные клетки

Циркулирующие антитела к париетальным клеткам желудка могут выявляться в 80-90% случаев у пациентов при злокачественной анемии, кроме того, они выявляются у 2-5% здоровых взрослых людей [3]. Биохимические и молекулярные исследования идентифицировали ответственный антиген как a- и b-субъединицу желудочной H+/K+ АТФазы. H+/K+ АТФаза желудка (EC 3.6.1.3) это фермент, транспортирующий водород, ответственный за подкисление просвета желудка [4].

Тканевая трансглютаминаза (tTG)

Анти-tTG антитела класса IgA являются высокочувствительным маркером целиакии, 95-100%, и обладает специфичностью от 90 до 97 %. Было показано, что фермент тканевая трансглютаминаза (tTG) является основной, если не единственной, мишенью для эндомизиальных антител. Уровень этих антител снижается в начале безглютеновой диеты, таким образом облегчая наблюдение за эффективностью диеты [5, 6, 7].

ASCA (антитела к Saccharomyces cerevisiae)

ASCA направлены против эпитопов олигосахарида, состоящего из маннозы, на клеточной стенке (фосфопептидоманнан) дрожжей Saccharomyces cerevisiae [8]. В целях дифференциальной диагностики между болезнью Крона и язвенным колитом могут быть использованы определения ANCA (анти нейтрофильные цитоплазматические антитела) и ASCA (антитела к Saccharomyces cerevisiae). IgG, так же как и IgA, обладают специфичностью 95-100% по отношению к болезни Крона. ASCA строго ассоциированы с болезнью Крона. Исследования показали 5% положительных случаев для IgG и 7% - для IgA ASCA при язвенном колите, тогда как при болезни Крона чувствительность для IgG составляет 75% и 60% для класса IgA ASCA [9, 10].

ГЛИАДИН

У пациентов с целиакией на фоне приема глютена экспрессируется высокий уровень антител к глиадину и tTG в сыворотке.

В случае удаления глютена из их диеты титр антител снижается, а, возможно, исчезает совсем. Глиадины – это белки, содержащие большое количество таких аминокислот, как пролин и глутамин. Этот белок встречается в злаках, семенах пшеницы, овса, ячменя и ржи. Взаимосвязь целиакии и избирательного дефицита IgA класса потенциально может привести к ложноотрицательным результатам. Таким образом, если целиакия является вероятным диагнозом, рекомендуется проводить определения IgG класса аутоантител [11, 12].

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Набор Gastro-5-Line сочетает в себе преимущества техники иммуноблота и панель хорошо подобранных антигенов.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Особо чистые препараты антигенов иммобилизованы на стрипах нитроцеллюлозной мембраны. Антитела к этим антигенам, присутствующие в разведенной сыворотке, связываются с мембраной. При промывке с мембранных стрипов удаляются не связавшиеся антитела. Щелочная фосфатаза, конъюгированная с антителами к IgG и IgA человека иммунологически связывается с антителами, присутствовавшими в сыворотке пациентов и связавшимися на мембране с антигеном. При этом образуется комплекс конъюгат/антитела/антиген. При промывке с мембранных стрипов удаляется не связавшийся конъюгат. Ферментный субстрат, в присутствии связавшегося конъюгата гидролизуется с образованием нерастворимого сине-фиолетового продукта. При промывке с мембранных стрипов удаляется не гидролизовавшийся субстрат. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации IgG и IgA классов антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. 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 мочи следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с BCIP/NBT (5-бром-4-хлор-3-индолил фосфат / р-нитро голубой тетразол хлорид. Если BCIP/NBT попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. Он способен образовывать взрывоопасные соединения при длительном контакте с медью или свинцом. При использовании реагентов, содержащих азид натрия необходимо наличие большого количества воды. Азид натрия может быть токсичен при попадании внутрь организма. В концентрациях, присутствующих в реагентах, он не токсичен. Несмотря на классификацию как не токсичного вещества, мы настоятельно рекомендуем следовать обычной лабораторной практике обращения с опасными веществами (см. 7, 8, 9).
6. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При выливании реагентов, содержащих Proclin 300, необходимо смывать большим количеством воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
7. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
8. Не отбирайте образцы ртом
9. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить и курить

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.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**8 или 16 тестов**
Нитроцеллюлозные стрипы с иммобилизованными на них особо чистыми препаратами нативных или рекомбинантных антигенов. Готовы к использованию.	**8 или 16**
Буфер для образцов, готов к использованию.	1 флакон 20 мл
Буфер промывочный, ***концентрат 50*x**	1 флакон 20 мл
Раствор (PBS, NaN3 <0.1 % (w/w)) ферментного коньюгата (розовый), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgGантитела, и поликлональные кроличьи анти-человеческие IgA антитела, меченые щелочной фосфатазой. Готовы к использованию.	1 флакон 20 мл
Раствор субстрата (BCIP/NBT). Готов к использованию.	1или 2 флакона, 10 мл
Предобработанные калибровочные нитроцеллюлозные стрипы (обозначены «CAL») для полуколичественного анализа. Готовы к использованию	1или 2
Ванночки с инкубационными камерами	1или 2
Листы данных. Готовы к использованию.	1или 2

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C в их оригинальной упаковке
2. Храните микропланшет в хорошо запечатанном пакете с осушителем.
3. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
4. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться.
5. Разведенные буфер для промывок и буфер для образцов стабильны при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Пипетки на 10, 500 и 1000 мкл
- Качающаяся платформа
- Пинцет
- Лабораторный таймер

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерные цилиндры на 1000 мл

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. отделите сыворотку от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C по крайней мере 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование дезактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов пипетирования, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. С нитроцеллюлозными стрипами необходимо работать в перчатках или с помощью пинцета.
8. Для избежания переходящей контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
9. Необходимо соблюдать время всех инкубаций
10. Контрольные сыворотки или пулы должны быть проанализированы совместно с остальными образцами, при тех же условиях.
11. Необходимо убедиться, что во время инкубации не происходит образование воздушных пузырьков. Это может привести к неравномерной окраске и, как следствие, неверным результатам.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для промывок

Разбавьте содержимое каждого флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл (20 мл концентрата и 980 мл воды) перед использованием. Храните охлажденным до 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Используя пинцет, поместите Gastro-5-Line стрипы и добавьте по 1.0 мл буфера для образцов в каждую инкубационную камеру. Аккуратно покачивайте в течение 5 минут для равномерного распределения.
2. Внесите по 10 мкл сыворотки пациентов непосредственно в камеру (конечное разведение 1:101).
3. Инкубируйте 60 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
4. Осторожно удалите разведенную сыворотку со стрипов, полностью.
5. Внесите по 2.0 мл буфера для промывок, инкубируйте 5 минут, затем удалите, как в шаге 4. Повторите эту процедуру дважды.
6. Внесите по 1.0 мл ферментного конъюгата в каждую камеру. 7. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
8. Осторожно удалите ферментный конъюгат со стрипов, полностью.
9. Внесите по 2.0 мл буфера для промывок, инкубируйте 5 минут, затем удалите, как в шаге 4. Повторите эту процедуру дважды.
10. Внесите по 1.0 мл субстрата на каждый стрип.
11. Инкубируйте 10 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
12. Удалите субстрат и промойте стрипы дистиллированной водой, по 1.0 мл три раза по 5 минут каждый для остановки реакции.
13. Осторожно высушите стрипы (промокните) фильтровальной бумагой.
14. Перед оценкой дайте стрипу высохнуть на воздухе.

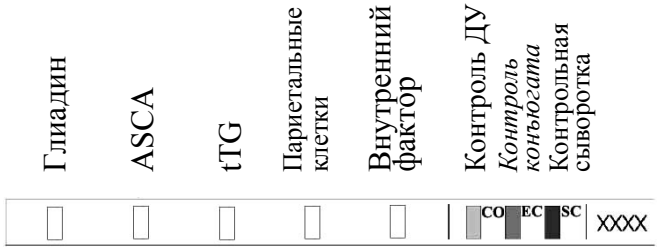
ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ
КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Данный тест считается действительным только в случае, если Контрольная сыворотка (первая линия), контроль коньюгата (вторая линия) и контроль дискриминационного уровня - cut-off (третья линия) изменили цвет в пределах реактивной полосы. Если эти критерии не выполнены, результаты должны быть признаны недействительными и тестирование должно быть повторено.

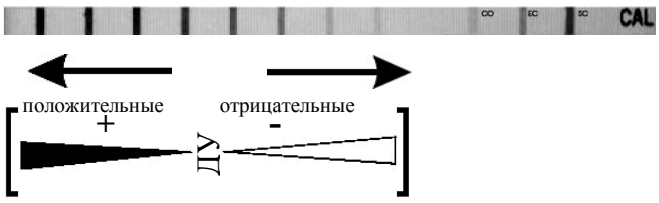
Интерпретация результатов

Антигены расположены на мембране в порядке, указанном на рисунке:

Проявившиеся линии должны сравниваться с калибровочным стрипом следующим образом:



1. Сравните линию контроля ДУ стрипа, на котором проводился анализ сыворотки пациента, с калибровочными линиями на калибровочном стрипе для корректировки.
2. Сравните линии стрипа, на котором проводился анализ сыворотки пациента, с калибровочными линиями для полуколичественного анализа, задавая контроль ДУ.



Замечания по оценке результатов анализа образцов:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. Данный полуколичественный метод определения специфических аутоантител в сыворотке пациентов позволяет провести дискриминацию между отрицательным, пограничным, слабо положительным, положительным и строго положительным ответами. Образцы, для которых был получен пограничный результат, должны быть проанализированы еще раз или протестированы с помощью другого метода.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Специфичность:
С помощью набора Gastro-5-Line были протестированы сыворотки пациентов с известной специфичностью и здоровых доноров. Для всех образцов донорских сывороток были получены отрицательные результаты по всем антигенным специфичностям.

Калибровка:
Чувствительность, специфичность и дозозависимость метода иммуноблота Gastro-5-Line оценивалась с помощью сывороток, клинически заданных с помощью внутреннего контроля качества, содержащих различные относительные количества сывороток известных специфичностей.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Метод Gastro-5-Line может быть использован в диагностических целях, но сам по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ
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.

ЛИТЕРАТУРА

1. Roubey Carmel, R.. Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. Clin. Exp. Immunol., 1992, 89:74-77.
2. Schade, S.G., P.L. Feick, M.H. Imrie, and R.F. Schilling. In vitro studies on antibodies to intrinsic factor. Clin. Exp. Immunol. 1967, 2:399-413.
3. Uibo, R., Krohn, K., Villako, K., Tammur, T., Tamm, A.. The relationship of parietal cell, gastrin cell and thyroid autoantibodies to the state of the gastric mucosa in a population sample. Scand. J. Gastroenterol. 1984, No. 19, pp. 1075-1080.
4. Rabon, E. C. and Reuben M. A.. The mechanism and structure of the gastric H/K-ATPase. Annu. Rev. Physiol. 1990, No. 52, pp. 321-344.
5. Fesus, L., And M. Piacentini. Transglutaminase 2: an enigmatic enzyme with diverse functions. Trends Biochem. Sci., 2002, 27:534-539.
6. Dieterich, W. Et al. Autoantibodies to tissue Transglutaminase as predictors of celiac disease. Gastroenterol., 1998, 115:1317-1321.
7. Dieterich, W. Et al., Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. Nature Med., 1997, 3:797-801.
8. Sendid, B., J.F. Colombel, P.M. Jacquinot, C. Faille, J. Fruit, A. Cortot, D. Lucidarme, D.
Camus, and D. Poulain. Specific antibody response to oligomannosidic epitopes in Crohn.s
Disease. Clin. Diag. Lab. Immunol., 1996, 3(2):219-226.
9. Main, J., H. McKenzie, G.R. Yeaman, M.A. Kjerr, D. Robson, and C.R. Pennington.
Antibody to Saccharomyces cerevisiaev (baker.s yeast) in Crohn.s disease. Brit. J. Med.,
1988, 297:1105-1106.
10. McKenzie, H., J. Main, C.R. Pennington, and D. Parrat. Antibody to selected strains of
Saccharomyces cerevisiae (baker.s and brewer.s yeast) and Candida albicans in Crohn.s
diasease. Gut, 1990, 31:536-538.
11. Sollid, L.M. Coeliac diasease: Dissecting a complex inflammatory disorder. Nature Rev.,
2002, 2:647-655.
12. Dieterich, W. Et al. Serum antibodies in Celiac Disease. Clin. Lab., 2000, 46:361-364.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

1. Поместите Gastro-5-Line стрипы камеры инкубационной емкости

→ Добавьте по **1.0 мл** буфера для образцов в каждую камеру инкубационной емкости

→ Покачивайте в течение **5 минут** в процессе инкубации.

2. Внесите по **10 мкл** сыворотки пациентов и размешайте

→ Инкубируйте **60 мин**. при комнатной температуре, покачивая

→ Удалите содержимое и **трижды промойте по 5 минут**

1000 **мкл** промывочного раствора, удалите промывочный раствор.

3. Добавьте **1000 мкл** конъюгата фермента

→ Инкубируйте **30 мин**., покачивая

→ Удалите содержимое и **трижды промойте по 5 минут 1000 мкл** промывочного раствора, удалите промывочный раствор.

4. Добавьте по **500 мкл субстрата** на стрип

→ Инкубируйте **10 минут**., покачивая

→ Удалите содержимое и **трижды промойте по 5 минут**

1000 **мкл** дистиллированной водой, по 1.0 мл три раза по 5 минут,

высушите стрипы (промокните) фильтровальной бумагой.

Проводите оценку только после полного высыхания.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ANCA-3-Line

Кат. Номер 789-08 8 стрипов
Кат. Номер 789-16 16 стрипов

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

ANCA-3-Line - набор, основанный на иммуноферментном анализе на мембране, для полуколичественного определения аутоантител к PR3, MPO и GBM. Метод предназначен только для диагностики *in vitro* с целью диагностики васкулитов.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Антинейтрофильные цитоплазматические антитела (ANCA) представляют собой группу антител, специфичных к компонентам цитоплазмы нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов. Данный набор ANCA-3-Line разработан для скрининга на аутоантитела к PR3, MPO и GBM. Определение этих антител значимо для выявления системного васкулита и дифференциальной диагностики системных заболеваний. **PR3 (Протеиназа 3)**

PR3-ANCA является классическим аутоантигеном при гранулематозе Вегенера, с клинической специфичностью более 95%. Гранулематоз Вегенера – это первичный гранулематоз, вторично проявляющий признаки васкулита. Обычно титр антител коррелирует с активностью заболевания. В большинстве случаев при активной фазе заболевания могут быть обнаружены очень высокие титры анти-PR3 антител. В период проведения терапии титр антител падает и результаты становятся отрицательными к началу ремиссии.

MPO (Миелопероксидаза)

Антиген-мишень миелопероксидаза (MPO) в основном присутствует (70%) при микроскопическом полиангиите (MPA). Так как дифференциальная диагностика между MPA и другими аутоиммунными заболеваниями с пульморенальным синдромом (например, синдром Гудпасчера, системная красная волчанка, гранулематоз Вегенера) часто затруднена, выявление антител к MPO является, особенно на ранней стадии диагностики, очень важным.

GBM (клубочковая базальная мембрана)

Реактивность специфичных анти-GBM антител при синдроме Гудпасчера направлена к 29 кДа домену NC1 α-3 цепи коллагена IV типа GBM. Первично синдром Гудпасчера является аутоиммунным заболеванием почек. Синдром рассматривается как аутоиммунное расстройство, состоящее из трех частей – гломерулонефрита, легочной геморрагии и образование анти-GBM антител.

В наборе ANCA-3-Line удачно сочетаются все преимущества метода иммуноблота и панели хорошо подобранных антигенов.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Особо чистые препараты антигенов иммобилизованы на стрипах нитроцеллюлозной мембраны. Антитела к этим антигенам, присутствующие в разведенной сыворотке или плазме, связываются с мембраной. При промывке с мембранных стрипов удаляются неспецифические компоненты сыворотки или плазмы. Щелочная фосфатаза, конъюгированная с антителами к IgG человека, иммунологически выявляет связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке или плазме пациентов, образя комплекс конъюгат/антитела/антиген. При промывке с мембранных стрипов удаляется несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат, в присутствии связавшегося конъюгата, гидролизуется с образованием нерастворимого сине-фиолетового продукта. При промывке с мембранных стрипов удаляется не гидролизовавшийся субстрат. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами данного набора, содердащими компоненты человеческого происхождения, следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с BCIP/NBT (5-бром-4-хлор-3-индолил фосфат / р-нитро голубой тетразол хлорид. Если BCIP/NBT попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(NaN_3) в качестве консерванта. Он способен образовывать взрывоопасные соединения при длительном контакте с медью или свинцом. При использовании реагентов, содержащих азид натрия необходимо наличие большого количества воды. Азид натрия может быть токсичен при попадании внутрь организма. В концентрациях, присутствующих в реагентах (0.09%), он не токсичен.
Несмотря на классификацию как не токсичного вещества, настоятельно рекомендуется следовать обычной лабораторной практике обращения с опасными веществами (см. 7, 8, 9).
6. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При выливании реагентов, содержащих Proclin 300, необходимо смывать большим количеством воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
7. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
8. Не пипетируйте ртом
9. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить, курить или пользоваться косметикой.

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.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**8 или 16 тестов**
Нитроцеллюлозные стрипы с иммобилизованными на них особо чистыми препаратами нативных антигенов. Готовы к использованию.	**8 или 16**
Буфер для образцов, готов к использованию. Данный буфер специяльно разработан для набора ANCA-3-Line и не может быть заменен буфером для образцов из других наборов для иммуноблотов.	1 флакон 20 мл
Буфер промывочный, ***концентрат 50*x**	1 флакон 20 мл
Раствор (PBS, NaN3 <0.1 % (w/w)) ферментного коньюгата (розовый), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG антитела, меченые щелочной фосфатазой. Готовы к использованию.	1 флакон 20 мл
Раствор субстрата (BCIP/NBT). Готов к использованию.	1 или 2 флакона, 10 мл
Предобработанные калибровочные нитроцеллюлозные стрипы (обозначены «CAL») для полуколичественного анализа. Готовы к использованию.	1или 2
Емкости для инкубации	1 или 2
Листы данных. Готовы к использованию.	1 или 2

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ
1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C в их оригинальной упаковке
2. Храните нитроцеллюлозные стрипы в хорошо запечатанном пластиковом контейнере, с осушителем.
3. Важно: Калибровочный стрип очень чувствителен к свету. Пожалуйста, храните его в темноте.
4. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
5. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться во время работы или хранения.
6. Разведенные буфер для промывок стабилен при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ
Оборудование
- Пипетки на 10, 500 и 1000 мкл
- Лабораторный таймер
- Качающаяся платформа
- Пинцет

Приготовление реагентов
- дистиллированная вода
- мерный цилиндр на 1000 мл

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ
1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C до 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ
1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Для избежания перекрестной контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
8. С нитроцеллюлозными стрипами необходимо рабоать в перчатках или с помощью пинцета.
9. Необходимо точно соблюдать время всех инкубаций
10. Контрольные сыворотки или пулы должны всегда анализироваться совместно с остальными образцами, при тех же условиях, для проверки качества выполнения методики и реагентов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

11. Необходимо убедиться, что во время инкубации не происходит образование воздушных пузырьков. Это может привести к неравномерному окрашиванию и, как следствие, к неверным результатам.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для промывок
Разбавьте содержимое каждого флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным: буфер стабилен при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

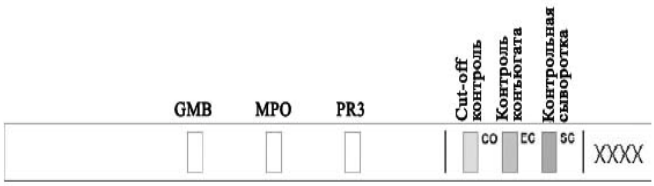
ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Используя пинцет, поместите ANCA-3-Line стрип и добавьте по 1.0 мл буфера для образцов в каждую камеру инкубационной емкости. Аккуратно покачивайте в течение 5 минут для равномерного распределения.
2. Внесите по 10 мкл образцов сывороток пациентов непосредственно в камеру (конечное разведение 1:101).
3. Инкубируйте 60 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
4. Осторожно полностью удалите разведенную сыворотку со стрипов.
5. Внесите по 2.0 мл буфера для промывок, инкубируйте 5 минут, затем удалите, как в шаге 4. Повторите эту процедуру дважды.
6. Внесите по 1.0 мл ферментного конъюгата в каждую камеру. 7. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
8. Осторожно полностью удалите ферментный конъюгат со стрипов.
9. Внесите по 2.0 мл буфера для промывок, инкубируйте 5 минут, затем удалите, как в шаге 4. Повторите эту процедуру дважды.
10. Внесите по 1.0 мл субстрата на каждый стрип.
11. Инкубируйте 10 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
12. Удалите субстрат и промойте стрипы дистиллированной водой, по 1.0 мл три раза по 5 минут каждый, для остановки реакции.
13. Осторожно высушите стрипы (промокните) фильтровальной бумагой.
14. Перед оценкой дайте стрипам высохнуть на воздухе.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества
Данный тест считается действительным только в случае, если Контрольная сыворотка (первая линия), контроль коньюгата (вторая линия) и контроль дискриминационного уровня «Cut-Off» (третья линия) демонстрируют преобразование субстрата в виде образовавшихся бэндов! Если эти критерии не выполнены, результаты должны быть признаны недействительными и тестирование должно быть повторено.

Интерпретация результатов
Антигены расположены намембране в порядке, указанном на рисунке:



Окраска полос сравнивается с окраской полос Калибровочного стрипа следующим образом:
1. Сравните полосу Cut-Off контроля на рабочем стрипе с полосой Cut-Off контроля Калибровочного стрипа.
2. Сравните полосы, сорбированные антигенами, на рабочем стрипе с калибровочными полосами на Калибровочном стрипе для полуколичественной оценки.

Замечания по интерпретации результатов:
Данный полуколичественный метод определения специфических аутоантител в образцах сывороток пациентов позволяет различать отрицательный, пограничный, слабо положительный, положительный и строго положительный результаты. Образцы с пограничными результатами должны быть протестированы еще раз этим или альтернативным методом.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Набор ANCA-3-Line охарактеризовывали тестированием образцов сывороток пациентов с известной специфичностью и доноров крови, используя обычную процедуру метода. Для всех доноров крови были получены отрицательные результаты для всех специфических антигенов.

КАЛИБРОВКА

Чувствительность, специфичность и зависимость от дозы для метода иммуноблота ANCA-3-Line оценивались с использованием внутренних контрольных сывороток, содержащих различные относительные количества сывороток с известно специфичностью.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

ANCA-3-Line может быть использован в диагностических целях, но сам по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

Не наблюдалось интерференции при тестировании образцов с гемолизом (до 1000 мг/дл), липемией (до 3 г/дл триглицеридов) или повышенным содержанием билирубина

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

(до 40 мг/дл). Не наблюдалось какого-либо влияния при использовании антикоагулянтов. Однако, не рекомендуется использовать образцы с сильным гемолизом или липемией.

ЛИТЕРАТУРА
См. английскую инструкцию.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

1. поместите **стрип** в камеру инкубационной емкости

→ добавьте по 1000 мкл буфера для образцов на каждый стрип в каждую камеру инкубационной емкости

→ Аккуратно покачивайте в течение 5 минут для равномерного распределения.

2. Добавьте **10 мкл** образцов сывороток пациентов и перемешайте

→ Инкубируйте **60 мин**. при комнатной температуре на шейкере

→ Удалите содержимое и **3 раза** промойте по **2000 мкл** по **5 минут** буфером для промывок. Удалите буфер.

3. Добавьте по **1000 мкл** ферментного конъюгата на каждый стрип

→ Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре на шейкере

→ Удалите содержимое и **3 раза** промойте по **2000 мкл** по **5 минут** буфером для промывок. Удалите буфер.

4. Добавьте по **1000 мкл** субстрата на стрип

→ Инкубируйте **10 мин**. при комнатной температуре на шейкере

→ Удалите содержимое и **3 раза** промойте по **1000 мкл по 5 минут** дистиллированной водой. Высушите стрипы фильтровальной бумагой. Оценивайте результаты только после полного высыхания

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Myositis plus

Кат. № ORG 760-08 8 стрипов

Кат. № ORG 760-16 16 стрипов

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Myositis plus - набор, основанный на методе иммуноблота на мембране, для полуколичественного определения митохондриальных антител М2 подтипа (AMA-M2), IgG аутофнтител к ядерному и цитоплазматическому антигену Jo-1 (гистидил-тРНК синтаза), PM-ScI-100, PL 7 (треонил-тРНК синтаза), PL 12 (аланил-тРНК синтаза), Mi-2, Ku (p70/80) и SRP (частица распознавания сигнала); а также IgG аутоантител к Rib-P (рибосомальным фосфопротеинам).

Метод предназначен только для диагностики *in vitro,* могут быть исследованы образцы сыворотки или пдазмы.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Дерматомиозит, полимиозит и миозит с включёнными тельцами аявляются идиопатическими воспалительными заболеваниями неизвестной этиологии. Они характеризуются мышечной слабостью и атрофией проксимальной мускулатуры; прогрессия заболевания обычно подострая. Эти миопатии относятся к аутоиммунным заболеваниям.

Идиопатические миозиты часто ассоциированы с другими аутоиммунными заболеваниями и болезнями соединительной ткани или обладают схожими симптомами, что иногда делает точную диагностику затруднительной. Из примерно 90% пациентов, у которых обнаруживают антитела, у 60 % они направлены к специфическому ядерному (ANA) и/или цитоплазматическому антигенам. В 1/5 случаев антигенами-мишенями являются рибонуклеопротеины, участвующие в биосинтезе белков (тРНК-синтазы, SRP). Эти антитела указывают на интерстициальное заболевание легких (ILD).

Миозит-специфические антитела, MSA, обычно появляются только в случаях идиопатического воспалительного миозита, и являются маркером данного заболевания. Они могут выявляться перед клинической манифестацией заболевания и исчезают после успешного лечения. Миозит-ассоциированные аутоантитела, MAA, кроме идиопатического воспалительного миозита также обнаруживаются у пациентов, страдающих другими заболеваниями,.

В методе Myositis plus производства ORGENTEC Diagnostika использованы типичные и наиболее распространенные антигены для выявления MSA и MAA. Благодаря сочетанию выбранных антигенов данный тест, основанный на иммуноблоте, позволяет быстро и просто выполнять диагностику и дифференциальную диагностику идиопатического воспалительного миозита и сзаболеваний со схожими или аналогичными симптомами. Сочетание используемых антигенов в тесте Myositis plus также позволяет дифференцировать аутоантитела к рибосомам и митохондриям, которые демонстрируют цитоплазматический характер окрашивания методом иммунофлуоресценции.

AMA-M2

Антимитохондриальные антитела (AMA) это гетерогенная группа аутоантител, направленных к различным белкам внутренней и внешней сторон митохондриальной мембраны. AMA подтипа M2 направлены к эпитопам комплекса пируватдегидрогеназы. Высокая чувствительность и специфичность аутоантител M2 делает их прекрасным инструментом для выявления первичного билиарного цирроза (PBC).

Анти-Jo-1

Антитела к антигену Jo-1, гистидил-тРНК синтазе, являются наиболее частыми миозит-специфическими аутоантителами (MSA). У примерно 90% пациентов, у которых были выявлены анти-Jo-1, в ходе заболевания развивается миозит. Jo-1 – это цитоплазматический фермент, катализирующий связывание гистидина со специфической тРНК в процессе биосинтеза белка.

Анти-PM-Scl-100

Как миозит-ассоциированные антитела, аутоантитела к PM-Scl-100 являются важным индикатором при синдроме перекрывания миозит/склеродермия. Они могут обнаруживаться у примерно ¼ пациентов с перекрыванием миозит/склеродермия, но в случаях склеродермии или миозита отдельно они выявляются редко, в 2 и 6 %, соответственно. Анти-PM-Scl-100 направлены к эпитопам экзосом мультиферментного комплекса, состоящего из нескольких РНК-связывающих белков и ферментов с экзорибонуклеазной функцией и играющего важную роль в процессинге РНК.

Анти-PL-7

Аутоантитела PL-7 направлены против треонил-тРНК синтазы цитоплазмы. Анти-PL-7 это миозит-специфические антитела, но они очень редки, встречаются менее чем в 3% случаев.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Анти-PL-12

Анти-Pl-12 это еще одни миозит-специфические антитела к аланил-тРНК синтазе цитоплазмы. Они встречаются менее чем в 3% случаев.

Анти-Mi-2

Миозит-специфические антитела к белку Mi-2 являются диагностическим маркером идиопатического миозита. Среди больных с положительными результатами анти-Mi-2 примерно 95% страдают дерматомиозитом и 3% - полимоизитом. Антиген-мишень этих антител это центральный компонент мультибелкового комплекса (NuRD), катализирующего модификацию хроматиновой структуры и, таким образом, действующего как активатор или репрессор транскрипции.

Анти-u (p70/80)

Антиген-мишень этих миозит-ассоциированных антител это Ku-антиген, АТФ-зависимая ДНК хеликаза. Антитела к Ku выявляются у примерно 7% больных с миозитами.

Они также определяются при других аутоиммунных заболеваниях, такие как SLE или синдром Шегрена.

Анти-SRP

Миозит-специфические анти-SRP антитела могут выявляться в случаях тяжелого миозита. Их встречаемость при миозитах составляет около 4%; у около ¼ SRP-положительных пациентов обнаруживают клинические признаки дерматомиозита. Антиген-мишень этих антител это частица распознавания сигнала (SRP), цитоплазматический рибонуклеопротеиновый комплекс, ответственный за транслокацию вновь синтезированных протеинов из рибосом в эндоплазматический ретикулум.

Анти-Rib-P

Rib-P антитела являются диагностическим маркером системной красной волчанки (SLE). Они выявляются у 10 - 20% больных SLE, в первую очередь в активной фазе заболевания; их редко обнаруживают у пациентов с другими аутоиммунным заболеваниями. У пациентов, страдающих склеродермией, присутствие Rib-P антител может указывать на перекрывание склеродермия/SLE. Антиген-мишень этих аутоантител это специфические регионы фосфопротеинов P0 (38 кДа), P1 (19 кДа) и P2 (17 кДа) субъединицы 60S рибосомального комплекса.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Особо чистые антигены AMA-M2, Jo-1, PM-Scl-100, PL 7, PL 12,Mi-2, Ku (p70/80), SRP и Rib-P иммобилизованы на стрипах нитроцеллюлозной мембраны. Антитела к этим антигенам, присутствующие в разведенной сыворотке или плазме, связываются с мембраной. При промывке с мембранных стрипов удаляются неспецифические компоненты сыворотки или плазмы. Щелочная фосфатаза, конъюгированная с антителами к IgG человека, иммунологически выявляет связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке или плазме пациентов, образя комплекс конъюгат/антитела/антиген. При промывке с мембранных стрипов удаляется несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат, в присутствии связавшегося конъюгата, гидролизуется с образованием нерастворимого сине-фиолетового продукта. При промывке с мембранных стрипов удаляется не гидролизовавшийся субстрат. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro*.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами данного набора, содердащими компоненты человеческого происхождения, следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с BCIP/NBT (5-бром-4-хлор-3-индолил фосфат / р-нитро голубой тетразол хлорид. Если BCIP/NBT попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. Он способен образовывать взрывоопасные соединения при длительном контакте с медью или свинцом. При использовании реагентов, содержащих азид натрия необходимо наличие большого количества воды. Азид натрия может быть токсичен при попадании внутрь организма. В концентрациях, присутствующих в реагентах (0.09%), он не токсичен. Несмотря на классификацию как не токсичного вещества, настоятельно рекомендуется следовать обычной лабораторной практике обращения с опасными веществами (см. 7, 8, 9).
6. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При выливании реагентов, содержащих Proclin 300, необходимо смывать большим количеством воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
7. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
8. Не пипетируйте ртом
9. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить, курить или пользоваться косметикой.

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.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**8 / 16 тестов**
Нитроцеллюлозные стрипы с иммобилизованными на них особо чистыми препаратами антигенов AMA-M2, Jo-1, PM-Scl-100, PL 7, PL 12, Mi-2, Ku (p70/80), SRP и Rib-P. Готовы к использованию.	**8 или 16**
Буфер для образцов, готов к использованию. Данный буфер специяльно разработан для набора Myositis plus и не может быть заменен буфером для образцов из других наборов для иммуноблотов.	1 флакон 20 мл
Буфер промывочный, ***концентрат 50*x**	1 флакон 20 мл
Раствор (PBS, NaN3 <0.1 % (w/w)) ферментного коньюгата (розовый), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG антитела, меченые щелочной фосфатазой. Готовы к использованию.	1 флакон 20 мл

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Раствор субстрата (BCIP/NBT). Готов к использованию.	1 или 2 флакона, 5 мл
Предобработанные калибровочные нитроцеллюлозные стрипы (обозначены «CAL») для полуколичественного анализа. Готовы к использованию.	1или 2
Емкости для инкубации	1 или 2
Листы данных. Готовы к использованию.	1 или 2

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C в их оригинальной упаковке
2. Храните нитроцеллюлозные стрипы в хорошо запечатанном пластиковом контейнере, с осушителем.
3. **Важно:** Калибровочный стрип очень чувствителен к свету. Пожалуйста, храните его в темноте.
4. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
5. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться во время работы или хранения.
6. Разведенные буфер для промывок стабилен при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Пипетки на 10, 500 и 1000 мкл
- Лабораторный таймер
- Качающаяся платформа
- Пинцет

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерный цилиндр на 1000 мл

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C до 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Для избежания перекрестной контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
8. С нитроцеллюлозными стрипами необходимо рабоать в перчатках или с помощью пинцета.
9. Необходимо точно соблюдать время всех инкубаций
10. Контрольные сыворотки или пулы должны всегда анализироваться совместно с остальными образцами, при тех же условиях, для проверки качества выполнения методики и реагентов.
11. Убедитесь, что на стрипе во время инкубации нет пузырьков воздуха. Наличие пузырьков может привести к неравномерному окрашиванию бендов и неправильной интерпретации результатов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для промывок

Разбавьте содержимое каждого флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным: буфер стабилен при 2-8^{o}C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Ипользуя пинцет, поместите стрип Myositis plus и добавьте по 1.0 мл буфера для образцов в каждую камеру инкубационной емкости. Аккуратно покачивайте в течение 5 минут для равномерного распределения.
2. Внесите 10 мкл образца сыворотки пациента непосредственно в камеру (конечное разведение 1:101).
3. Инкубируйте 60 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
4. Осторожно полностью удалите разведенную сыворотку со стрипов.
5. Внесите по 2.0 мл буфера для промывок, инкубируйте 5 минут, затем удалите, как в шаге 4. Повторите эту процедуру дважды.
6. Внесите по 1.0 мл ферментного конъюгата в каждую камеру. 7. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
8. Осторожно полностью удалите ферментный конъюгат со стрипов.
9. Внесите по 2.0 мл буфера для промывок, инкубируйте 5 минут, затем удалите, как в шаге 4. Повторите эту процедуру дважды.
10. Внесите по 1 мл субстрата на каждый стрип.
11. Инкубируйте 10 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
12. Удалите субстрат и промойте стрипы дистиллированной водой, по 1.0 мл три раза по 5 минут каждый, для остановки реакции.
13. Осторожно высушите стрипы (промокните) фильтровальной бумагой.
14. Перед оценкой дайте стрипам высохнуть на воздухе.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

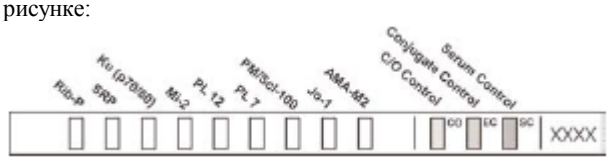
Данный тест считается действительным только в случае, если Контрольная сыворотка (первая линия), контроль коньюгата (вторая линия) и контроль дискриминационного уровня «Cut-Off» (третья линия) демонстрируют преобразование субстрата в виде образовавшихся бэндов! Если эти критерии не

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

выполнены, результаты должны быть признаны недействительными и тестирование должно быть повторено.

Интерпретация результатов

Антигены расположены намембране в порядке, указанном на рисунке:



Стрип, инкубированный с образцом сыворотки пациента (тест-стрип) с проявившимися окрашенными бендами сравнивают с калибровочным стрипом:

1. Сравните бенд контроля «Cut-Off» тест-стрипа с калибровочными бендами калибровочного стрипа для корректировки.
2. Для полуколичественного определения сравните бенды на тест-стрипе с калибровочными бендами калибровочного стрипа, скорректированными по контролю «Cut-Off».

Замечания по интерпретации результатов:

Данный полуколичественный метод определения специфических аутоантител в образцах сывороток пациентов позволяет различать отрицательный, пограничный, слабо положительный, положительный и строго положительный результаты. Образцы с пограничными результатами должны быть протестированы еще раз этим или альтернативным методом.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Набором Myositis plus протестировали образцы сывороток пациентов с известной специфичностью и доноров крови, используя обычную процедуру метода. Для всех доноров крови были получены отрицательные результаты для всех специфических антигенов.

КАЛИБРОВКА

Чувствительность, специфичность и зависимость от дозы для метода иммуноблота Myositis plus оценивались с использованием внутренних контрольных сывороток, содержащих различные относительные количества сывороток с известно специфичностью.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Myositis plus может быть использован в диагностических целях, но сам по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

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.

ЛИТЕРАТУРА

См. английскую инструкцию.

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

1. поместите **стрип** в камеру инкубационной емкости

→ добавьте по 1000 мкл буфера для образцов на каждый стрип в каждую камеру инкубационной емкости

→ Аккуратно покачивайте в течение 5 минут для равномерного распределения.

2. Добавьте **10 мкл** образцов сывороток пациентов и перемешайте

→ Инкубируйте **60 мин**. при комнатной температуре на шейкере

→ Удалите содержимое и **3 раза** промойте по **2000 мкл** по **5 минут** буфером для промывок. Удалите буфер.

3. Добавьте по **1000 мкл** ферментного конъюгата на каждый стрип

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре на шейкере

Удалите содержимое и **3 раза** промойте по **2000 мкл** по **5 минут** буфером для промывок. Удалите буфер.

4. Добавьте по **1000 мкл** субстрата на стрип

Инкубируйте **10 мин**. при комнатной температуре на шейкере

Удалите содержимое и **3 раза** промойте по **1000 мкл** по **5 минут** дистиллированной водой. Высушите стрипы фильтровальной бумагой. Оценивайте результаты только после полного высыхания

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Liver-9-Line

Кат. № ORG 722-16, ORG 722-16 8/16 стрипов

Уважаемые коллеги! Русская версия инструкции переведена с английского варианта. Обратите внимание на соответствие номера и даты версии английской инструкции, вложенной в набор, с русским переводом. Если версии на русском и английском языках не совпадают, обратитесь к региональному представителю за исправленным русским вариантом или используйте инструкцию на английском языке.

Инструкция пользователя

НАЗНАЧЕНИЕ

Liver-9-Line - набор, основанный на методе иммуноблота на мембране, для полуколичественного определения митохондриальных антител М2 подтипа (AMA-M2), антител к растворимому ядерному белку (Sp100), антител к интегральному мембранному гликопротеину (gp210), антител к растворимым антигенам печени (SLA/LP), антител к микросомам (антиген тип I) печени и почек (LKM-1) и цитозольному антигену (антиген тип I) печени (LC1). Кроме того, данный метод выявляет аутоантитела к F-актину, десмину и миозину, трем различным антигенам гладкой мускулатуры (SMAs). Liver-7-Line Метод предназначен только для диагностики *in vitro,* могут быть исследованы образцы сыворотки или пдазмы.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Аутоиммунный гепатит (AIH) это хронической заболеваний печени неясной этиологии. AIH встречается очень редко (приблизительно от 50 до 200 больных на 1 миллион). Типичными для данного заболевания являются повышенный уровень трансаминазы, гипергаммаглобулинемия и повышенные титры антиядерных антител (ANA) и/или антител к гладкой мускулатуре (SMA). Гистологически выявляются признаки перипортального гепатита и инфильтрация портальной зоны лимфоидными клетками.

Заболевания встречается во всех возрастных группах, как у мужчин, так и у женщин, хотя женщины болеют чаще. При отсутствии лечения это заболевание прогрессирует до цирроза и/или варикоза вен пищевода. В этом случае смертность высокая. AIH часто развивается бессимптомно. Пациенты отмечают тошноту, постоянную усталость и боль в суставах и мышцах. Также могут присутствовать симптомы хронического заболевания печени, вплоть до и включая цирроз печени.

У большой части пациентов это заболевание часто диагностируется на бессимптомной стадии, в процессе обследования при увеличенном объеме печени. Так как прогноз значитеьно улучшается при своевременном лечении, то большое значение инммет ранная диагностика аутоиммунного гепатита.

Основываясь на различии выявляемых аутоантител, различают тип I AIH (AIH-1) и тип 2 AIH (AIH-2). В то время как AIH-1 встречается во всех возрастных группах, AIH-2 обычно диагностируется в молодом возрасте и у детей. AIH-2 составляет только небольшую часть всех случаев AIH, но очень быстро прогрессирует.

Метод Liver-7-Line ORGENTEC представляет собой иммуноблот, и предназначен для серологического исследования с целью выявления аутоиммунного гепатита (AIH). Одновременное определение аутоантител к семи различным антигенам делает возможной дифференциальную диагностику AIH и исключение других заболеваний печени.

AMA-M2

Антимитохондриальные антитела (AMA) это гетерогенная группа аутоантител, направленных к различным белкам внутренней и внешней сторон митохондриальной мембраны. AMA подтипа M2 направлены к эпитопам комплекса пируватдегидрогеназы. Высокая чувствительность и специфичность аутоантител M2 делает их прекрасным инструментом для выявления первичного билиарного цирроза (PBC).

AMA определяются в 90 - 95% случаев у больных PBC; выявление значительно повышенного титра AMA (>1:40 методом непрямой иммунофлуоресценции) это достоверный признак PBC. AMA также определяются у примерно 25 % больных AIH, хотя в этих случаях титры обычно низкие5.

Антитела к Sp100

Накоплено много данных, указывающих на то, что антитела к Sp100 (дающие четкое ядерное точечное окрашивание при выявлении методом ИФлА) высоко специфичны (специфичность 97%) для первичного билиарного цирроза (PBC), и они выявляются у 31% пациентов с PBC. Кроме того, Sp100 может выявляться практически у каждого второго (48%) AMA-отрицательного пациента с клинически и гистологически подтвержденным PBC. По этой причине признано, что Sp100 представляет собой важный дополнительный маркер, в дополнение к AMA.

Таким образом, одновременное определение AMA и Sp100 высоко специфично для выявления PBC. Наоборот, при аутоиммунном гепатите (AIH) 1, 2 и 3 типов, или при первичном склерозирующем холангите (PSC), антитела к Sp100 выявляются крайне редко. Кроме того, антитела к Sp100 могут наблюдаться при ревматоидном артрите (3%), системной волчанке (до 10%), системной склеродермии (5%) и у больных с синдромом Шегрена (2%).

Антитела к gp210

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Хорошо известно что антитела к gp210 (дающие четкое окрашивание ядерной мембраны при выявлении методом ИФлА) высоко специфичны для PBC и определяются у 21-41% больных PBC. Кроме того, в 21-47% AMA-отрицательных и клинически подтвержденных случаев PBC наблюдаются антитела к gp210. Специфичность достигает 99,5%, при аутоиммунных гепатиах, ревматоидном артрите, полимиозите или синдроме Шегрена антитела к gp210 наблюдаются крайне редко. Кроме того, антитела к gp210 ассоциированы с внепеченочной манифестацией, например, с артритом, и плохим прогнозом течения заболевания PBC.

Антитела к SLA/LP

Антитела к растворимому антигену печени (SLA/LP) это высоко специфичный маркер AIH-1. Аутоантиген-мишень – цитозольный белок с молекулярной массой 50 кДа, возможно, относится к рибонуклеопротеидному комплексу.

Антитела к LKM-1

Серологическим маркером AIH-2 являются антитела к микросомам (1 типа) печени и почек. Аутоантиген-мишень – цитохром P450 2D6 (CYP2D6). Антитела к LKM-1 также выявляются у до 7% пациентов с хроническим гепатитом C3, включая дополнительный эпитоп CYP2D64.

Антитела к LC-1

Антитела к цитозольному антигену (1 типа) печени (LC-1) являются специфическим маркером и выявляются у до 50 % больных AIH-2. Анти-LC-1 обнаруживаются у примерно половины всех пациентов, у которых присутствуют анти-LKM-1 антитела.

В отличии от анти-LKM-1, титр антител к LC-1 коррелирует с активностью заболевания2.

Показано, что анти-LC-1 единственный серологический маркер, выявляемый у 10 % больных AIH. Аутоантиген-мишень антител к LC-1 – фермент формиминотрансфераза циклодеаминаза (FTCD).

Анти-SMAs

Анти-SMAs это антитела к гладкой мускулатуре. Они являются типичными маркерами AIH-1. SMA антитела выявляются у 87 % больных AIH, либо как единственный маркер заболевания, либо в сочетании с ANA1 (антиядерными антителами). Анти-SMAs могут быть направлены к микрофиламентам (F-актин или миозин) или к промежуточным филаментам (десмин) гладкой мускулатуры. В случаях 1 типа AIH, преимущественно выявляются антитела к F-актину.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Особо чистые антигены AMA-M2, SLA/LP, LKM, LC1, gp210, Sp100 и SMA иммобилизованы на стрипах нитроцеллюлозной мембраны. Антитела к этим антигенам, присутствующие в разведенной сыворотке или плазме, связываются с мембраной. При промывке с мембранных стрипов удаляются неспецифические компоненты сыворотки или плазмы. Щелочная фосфатаза, конъюгированная с антителами к IgG человека, иммунологически выявляет связавшиеся антитела, присутствовавшие в сыворотке или плазме пациентов, образя комплекс конъюгат/антитела/антиген. При промывке с мембранных стрипов удаляется несвязавшийся конъюгат. Ферментный субстрат, в присутствии связавшегося конъюгата, гидролизуется с образованием нерастворимого сине-фиолетового продукта. При промывке с мембранных стрипов удаляется не гидролизовавшийся субстрат. Интенсивность окрашивания прямо пропорциональна концентрации IgG антител, присутствовавших в исходном образце.

ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Все реагенты набора предназначены строго для диагностики *in vitro.*
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов.
3. Компоненты набора содержат материалы человеческого происхождения, которые протестированы методами, одобренными FDA, на отсутствие HBsAg, HCV, HIV1 и HIV2. Однако, ни один метод не может гарантировать, что продукты человеческого происхождения не инфицированы. Следовательно, с реагентами данного набора, содердащими компоненты человеческого происхождения, следует обращаться как с потенциально инфекционно опасными.
4. Избегайте контакта с BCIP/NBT (5-бром-4-хлор-3-индолил фосфат / р-нитро голубой тетразол хлорид. Если BCIP/NBT попал на кожу, тщательно вымойте водой с мылом.
5. Некоторые компоненты набора (например, контроли, буфер для образцов, буфер для промывок) содержат азид натрия (NaN_3) в качестве консерванта. Он способен образовывать взрывоопасные соединения при длительном контакте с медью или свинцом. При использовании реагентов, содержащих азид натрия необходимо наличие большого количества воды. Азид натрия может быть токсичен при попадании внутрь организма. В концентрациях, присутствующих в реагентах (0.09%), он не токсичен. Несмотря на классификацию как не токсичного вещества, настоятельно рекомендуется следовать обычной лабораторной практике обращения с опасными веществами (см. 7, 8, 9).
6. Некоторые компоненты набора содержат Proclin 300 в качестве консерванта. При выливании реагентов, содержащих Proclin 300, необходимо смывать большим количеством воды для разведения компонентов до уровня ниже активного.
7. При обращении с образцами используйте одноразовые перчатки, а после работы тщательно мойте руки.
8. Не пипетируйте ртом
9. В помещении, где работают с образцами или компонентами набора, нельзя есть, пить, курить или пользоваться косметикой.

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.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Формат набора	**8 или 16 тестов**
Нитроцеллюлозные стрипы с иммобилизованными на них особо чистыми препаратами антигенов AMA-M2, SLA/LP, LKM, LC1, gp210, Sp100, F-актина, десмина и миозина. Готовы к использованию.	**8 или 16**
Буфер для образцов, готов к использованию. Данный буфер специяльно разработан для набора Liver-9-Line и не может быть заменен буфером для образцов из других наборов для иммуноблотов.	1 флакон 20 мл
Буфер промывочный, ***концентрат 50x***	1 флакон 20 мл
Раствор (PBS, NaN3 <0.1 % (w/w))	1 флакон

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ферментного коньюгата (розовый), содержащий поликлональные кроличьи анти-человеческие IgG антитела, меченые щелочной фосфатазой. Готовы к использованию.	20 мл
Раствор субстрата (BCIP/NBT). Готов к использованию.	1 или 2 флакона, 5 мл
Предобработанные калибровочные нитроцеллюлозные стрипы (обозначены «CAL») для полуколичественного анализа. Готовы к использованию.	1или 2
Емкости для инкубации	1 или 2
Листы данных. Готовы к использованию.	1 или 2

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Все реагенты должны храниться при 2 - 8 °C в их оригинальной упаковке
2. Храните нитроцеллюлозные стрипы в хорошо запечатанном пластиковом контейнере, с осушителем.
3. **Важно:** Калибровочный стрип очень чувствителен к свету. Пожалуйста, храните его в темноте.
4. Реагенты стабильны вплоть до истечения срока годности.
5. Не оставляйте компоненты набора или весь набор на ярко освещенном месте, под прямыми лучами солнца, не позволяйте реагентам нагреваться во время работы или хранения.
6. Разведенные буфер для промывок стабилен при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Оборудование

- Пипетки на 10, 500 и 1000 мкл
- Лабораторный таймер
- Качающаяся платформа
- Пинцет

Приготовление реагентов

- дистиллированная вода
- мерный цилиндр на 1000 мл

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Соберите образцы крови используя обычную медицинскую технику забора крови, избегая гемолиза.
2. Отделите сыворотку от клеток центрифугированием после образования сгустков.
3. Следует избегать тестирования гемолизных или липемичных образцов, однако ни липемия, ни гемолиз не оказывают существенного влияния на анализ.
4. Образцы могут храниться при охлаждении до 2 - 8 °C до 5 суток. Для более длительного хранения (до шести месяцев) образцы следует заморозить до -20°C.
5. Избегайте повторных циклов замораживания-оттаивания, это может привести к значительному снижению аутоантительной активности.
6. Не рекомендуется проводить тестирование деактивированных нагреванием образцов сыворотки.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО МЕТОДИКЕ

1. Не используйте компоненты набора после истечения срока их годности.
2. Не меняйте компоненты наборов из различных лотов
3. Позвольте всем компонентам набора и образцам достичь комнатной температуры (20-28°C) перед использованием и хорошо перемешайте их.
4. Все реагенты и образцы должны быть готовы к использованию перед началом тестирования. Для получения наиболее надежных и воспроизводимых результатов анализ должен проводиться без каких-либо изменений или останонок между этапами.
5. Пожалуйста, строго соблюдайте последовательность шагов, приведенную в этой инструкции
6. Всегда используйте свежеприготовленные разведения образцов
7. Для избежания перекрестной контаминации меняйте наконечники при нанесении каждого нового образца и различных контролей
8. С нитроцеллюлозными стрипами необходимо рабоать в перчатках или с помощью пинцета.
9. Необходимо точно соблюдать время всех инкубаций
10. Контрольные сыворотки или пулы должны всегда анализироваться совместно с остальными образцами, при тех же условиях, для проверки качества выполнения методики и реагентов.
11. Убедитесь, что на стрипе во время инкубации нет пузырьков воздуха. Наличие пузырьков может привести к неравномерному окрашиванию бендов и неправильной интерпретации результатов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Приготовление буфера для промывок

Разбавьте содержимое каждого флакона с 50-кратным концентратом промывочного буфера дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл перед использованием. Храните охлажденным: буфер стабилен при 2-8°C по крайней мере 30 дней после приготовления или до срока годности, указанного на этикетке.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Ипользуя пинцет, поместите стрип Liver-9-Line и добавьте по 1.0 мл буфера для образцов в каждую камеру инкубационной емкости. Аккуратно покачивайте в течение 5 минут для равномерного распределения.
2. Внесите 10 мкл образца сыворотки пациента непосредственно в камеру (конечное разведение 1:101).
3. Инкубируйте 60 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
4. Осторожно полностью удалите разведенную сыворотку со стрипов.
5. Внесите по 2.0 мл буфера для промывок, инкубируйте 5 минут, затем удалите, как в шаге 4. Повторите эту процедуру дважды.
6. Внесите по 1.0 мл ферментного конъюгата в каждую камеру.
7. Инкубируйте 30 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
8. Осторожно полностью удалите ферментный конъюгат со стрипов.
9. Внесите по 2.0 мл буфера для промывок, инкубируйте 5 минут, затем удалите, как в шаге 4. Повторите эту процедуру дважды.
10. Внесите по 1 мл субстрата на каждый стрип.
11. Инкубируйте 10 минут при комнатной температуре, аккуратно покачивая на качалке.
12. Удалите субстрат и промойте стрипы дистиллированной водой, по 1.0 мл три раза по 5 минут каждый, для остановки реакции.
13. Осторожно высушите стрипы (промокните) фильтровальной бумагой.
14. Перед оценкой дайте стрипам высохнуть на воздухе.

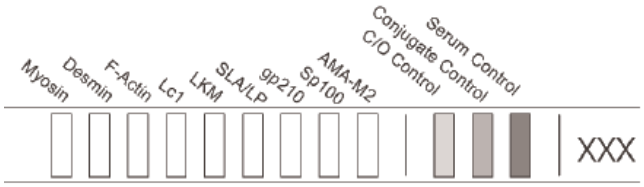
ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Контроль качества

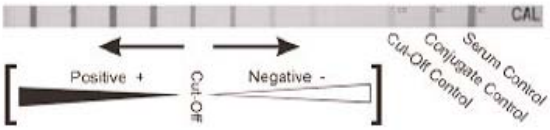
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Данный тест считается действительным только в случае, если Контрольная сыворотка (первая линия), контроль коньюгата (вторая линия) и контроль дискриминационного уровня «Cut-Off» (третья линия) демонстрируют преобразование субстрата в виде образовавшихся бэндов! Если эти критерии не выполнены, результаты должны быть признаны недействительными и тестирование должно быть повторено.

Интерпретация результатов
Антигены расположены намембране в порядке, указанном на рисунке:



Стрип, инкубированный с образцом сыворотки пациента (тест-стрип) с проявившимися окрашенными бендами сравнивают с калибровочным стрипом:
1. Сравните бенд контроля «Cut-Off» тест-стрипа с калибровочными бендами калибровочного стрипа для корректировки.
2. Для полуколичественного определения сравните бенды на тест-стрипе с калибровочными бендами калибровочного стрипа, скорректированными по контролю «Cut-Off».



Замечания по интерпретации результатов:
Данный полуколичественный метод определения специфических аутоантител в образцах сывороток пациентов позволяет различать отрицательный, пограничный, слабо положительный, положительный и строго положительный результаты. Образцы с пограничными результатами должны быть протестированы еще раз этим или альтернативным методом.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

СПЕЦИФИЧНОСТЬ
Набором Liver-9-Line протестировали образцы сывороток пациентов с известной специфичностью и доноров крови, используя обычную процедуру метода. Для всех доноров крови были получены отрицательные результаты для всех специфических антигенов.

КАЛИБРОВКА
Чувствительность, специфичность и зависимость от дозы для метода иммуноблота Liver-9-Line оценивались с использованием внутренних контрольных сывороток, содержащих различные относительные количества сывороток с известно специфичностью.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА
Liver-9-Line может быть использован в диагностических целях, но сам по себе не является диагностикумом. Окончательный клинический диагноз не должен основываться только на результатах данного теста, но должен быть поставлен врачом после получения результатом клинического и лабораторного обследований.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ
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.

ЛИТЕРАТУРА
См. английскую инструкцию.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СХЕМА ИНКУБАЦИИ

1. поместите **стрип** в камеру инкубационной емкости

→ добавьте по 1000 мкл буфера для образцов на каждый стрип в каждую камеру инкубационной емкости

→ Аккуратно покачивайте в течение 5 минут для равномерного распределения.

2. Добавьте **10 мкл** образцов сывороток пациентов и перемешайте

→ Инкубируйте **60 мин**. при комнатной температуре на шейкере

→ Удалите содержимое и **3 раза** промойте по **2000 мкл** по **5 минут** буфером для промывок. Удалите буфер.

3. Добавьте по **1000 мкл** ферментного конъюгата на каждый стрип

→ Инкубируйте **30 мин**. при комнатной температуре на шейкере

→ Удалите содержимое и **3 раза** промойте по **2000 мкл** по **5 минут** буфером для промывок. Удалите буфер.

4. Добавьте по **1000 мкл** субстрата на стрип

→ Инкубируйте **10 мин**. при комнатной температуре на шейкере

→ Удалите содержимое и **3 раза** промойте по **1000 мкл** по **5 минут** дистиллированной водой. Высушите стрипы фильтровальной бумагой. Оценивайте резулдьтаты только после полного высыхания

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

310_6

ORG 310 Alegria® Positive Control

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Положительный контрольный материал Alegria® - тест-полоска для осуществления контроля качества системы и реагентов Alegria® методом иммуноферментного анализа (ИФА). Данный продукт является принадлежность и предназначен только для профессионального пользования.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
Σ 24	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
8°C 2°C	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
310_6	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для одноразового применения. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов.
В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые являются реакционными лунками.
В положительном контрольном материале Alegria® тест-полоска Alegria® содержит

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

положительный образец в лунке, которая в противном случае используется как буферДля разведения образца. При выполнении данного анализа образцы человека не используются!
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

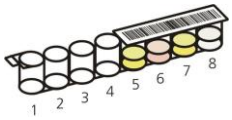
поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Положительный контроль– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Pos Contrl** на печатной этикетке: **CntrPos**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°С в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °С.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

· Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

Не применимо

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

· Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
· Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

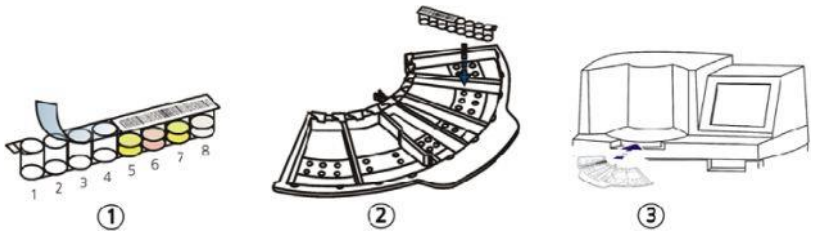
Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) Установите полоску в системный лоток SysTray

(3) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Диапазон измерений : не применимо

Ожидаемые значения: Целевые значения и диапазон ожидаемых значений указаны в сертификате анализа.

Линейность: не применимо

Предел обнаружения: не применимо

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: вариация коэффициента (% КВ) была рассчитана по результатам анализа 12 тест-полосок Alegria® ORG 310 на одном приборе Alegria®.
Межаналитическая точность: вариация коэффициента (% КВ) была рассчитана по результатам анализа 12 тест-полосок Alegria® ORG 310 на 7 приборах Alegria®.
В сертификате анализа указано целевое значение для конкретной партии и диапазон его приемлемых значений.

Внутрианалитическая точность		
	Среднее значение	КВ, %
	ед./мл	
ORG 310	105,0	3,8

Межаналитическая точность		
	Среднее значение	КВ, %
	ед./мл	
ORG 310	107,0	4,1

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ
Данная тест-система является принадлежностью к системе Alegria®. Контрольный материал используется для проверки правильности работы анализатора Alegria®. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189:2007 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетенции» или другими применимыми критериям.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 310_IFU_EN_QM113127_2014-06-26_5*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

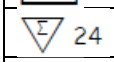
311_6

ORG 311 Alegria® Negative Control

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Отрицательный контрольный материал Alegria® - тест-полоска для осуществления контроля качества системы и реагентов Alegria® методом иммуноферментного анализа (ИФА). Данный продукт является принадлежность и предназначен только для профессионального пользования.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
310_6	Электронная инструкция по применению: версия
ALEGRIA TEST STRIPS	Тест-полоски Alegria®
WASH	Буферный раствор для промывки
SYSTEM FLUID	Системная жидкость
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

В состав набора Alegria® входят 8-луночные микрополоски с нанесенным на них штрихкодом, именуемые тест-полосками Alegria®. Каждая тест-полоска предназначена для одноразового применения. Тест-полоска Alegria® содержит полный набор реагентов.
В него входит ферментный конъюгат, ферментный субстрат, буфер для разведения образцов и контрольный материал. Кроме того, каждая тест-полоска имеет две лунки с нанесенным антигеном, которые являются реакционными лунками.
В отрицательном контрольном материале Alegria® тест-полоска Alegria® содержит отрицательный

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

образец в лунке, которая в противном случае используется как буфердля разведения образца. При выполнении данного анализа образцы человека не используются!
В основе методики определения лежит непрямая иммуноферментная реакция, которая проходит в несколько этапов: антитела, присутствующие в положительных образцах, связываются с антигеном, нанесенным на поверхность двух лунок, образуя комплекс «антитело–антиген». После инкубации проводят первый этап промывки для удаления несвязавшихся и неспецифически связанных молекул. Затем добавляют ферментный конъюгат, который связывается с иммобилизованным комплексом «антитело–антиген». После инкубации проводят второй этап промывки для удаления несвязавшегося ферментного конъюгата. Добавление раствора ферментного субстрата приводит к гидролизу и изменению окраски во время инкубации. Интенсивность синей окраски коррелирует с концентрацией комплекса «антитело–антиген» и может быть измерена фотометрически при длине волны 650 нм.
Тест-полоска Alegria® основана на запатентованной технологии кодирования SMC® (Sensotronic Memorized Calibration): штрихкод, нанесенный на каждую тест-полоску Alegria® содержит информацию о наименовании тест-системы, анализе и оценке, а также сведения о дате истечения срока годности серии.
Тест-полоски Alegria® могут использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом. С помощью технологии SMC® происходит передача данных, закодированных штрихкодом, от тест-полоски Alegria® к прибору для их последующей автоматической обработки и оценки. Прибор считывает дату истечения срока годности тест-полоски Alegria® и отклоняет дальнейшую обработку данных, если срок годности истек.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.
- Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.
- Избегайте контакта с субстратом ТМБ (3,3',5'-тетраметилбензидин).
- Системная жидкость содержит кислоту, которая согласно международной классификации относится к безопасным веществам. Избегать контакта с кожей.

Контроль, буфер для разведения образцов и буферный раствор для промывки содержат азид натрия 0,09 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

- Ферментный конъюгат, контроль и буфер для разведения образцов содержат ProClin 300 0,05 % в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами, контролями и образцами сыворотки соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики:

- Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. При необходимости обратитесь к врачу.
- Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

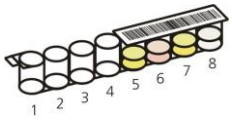
поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

- Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса. Используйте защитные очки. При условии использования по назначению опасные реакции не известны.
- Условия хранения: Поскольку раствор субстрата является светочувствительным, храните тест-полоски Alegria® в темном месте .
- При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

Соблюдайте руководящие принципы по проведению контроля качества в медицинских лабораториях путем анализа контролей и (или) смешанных образцов сыворотки крови.

СОСТАВ НАБОРА

ALEGRIA TEST STRIPS



Достаточно для 24 определений

Тест-полоски Alegria® представляют собой модули по 8 лунок:

Лунки 1+2: пустые и без покрытия (лунки для разведения образца)

Лунки 3+4: покрытые антигеном (реакционные лунки)

Лунка 5: Контроль – желтого цвета, содержит тест-специфические антитела, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 6: Конъюгат фермента – светло-красный, содержит меченые HRP антитела класса к IgG человека, фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, моющее средство, консервант ProClin 300 0,05%

Лунка 7: Отрицательный контроль– желтого цвета, содержит тест-специфические фосфатно-солевой буфер, бычий сывороточный альбумин, очищающее средство, консерванты азид натрия 0,09% и ProClin 300 0,05%.

Лунка 8: Субстрат ТМБ – прозрачный, содержит 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин.

Код на штрихкоде: **Neg Contrl** на печатной этикетке: **CntrNeg**

WASH 1 x 20 мл буферный раствор для промывки, содержащий трисаминометановый буфер, очищающее средство, консервант - азид натрия 0,09%; концентрат 50х.

SYSTEM FLUID 1х 2,5 мл системная жидкость, содержащая кислоту; концентрат 1000 х.

1 Сертификат анализа

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить тест-комплект при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия на реагенты тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Хранить тест-полоски Alegria® в запечатанном виде с влагопоглотителем в прилагаемом герметичном пакете.
- Срок годности невскрытого тест-комплекта составляет 15 месяцев со дня изготовления. Невскрытые реагенты стабильны до окончания срока годности тест-комплекта. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- Разбавленный буферный раствор для промывки и системная жидкость стабильны в течение не менее 30 дней при хранении при температуре 2-8 °C.

После переноса в контейнер для реагентов рекомендуется использовать в тот же день.

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

- Мерный цилиндр на 1000 мл и на 2500 мл.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Дистиллированная или деионизированная вода

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

Не применимо

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

WASH

Перед использованием разводят содержимое концентрата буферного раствора для промывки (50x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 1000 мл. Разбавленный буферный раствор для промывки переносят в контейнер для реагентов системы. Если в один день предусмотрено выполнение только одной серии анализов Alegria, рекомендуется переносить только 500 мл разбавленного буферного раствора для промывки.

SYSTEM FLUID

Перед использованием разводят содержимое концентрата системной жидкости (1000x) дистиллированной или деионизированной водой до конечного объема 2500 мл. Разбавленную системную жидкость переносят в контейнер для реагентов системы.

ALEGRIA TEST STRIPS

Из герметичного пакета извлекают необходимое количество тест-полосок Alegria® и оставляют их нагреваться до комнатной температуры (20-28 °C). Запрещается удалять фольгу, закрывающую пустые лунки, пока вы не будете готовы начать анализ.

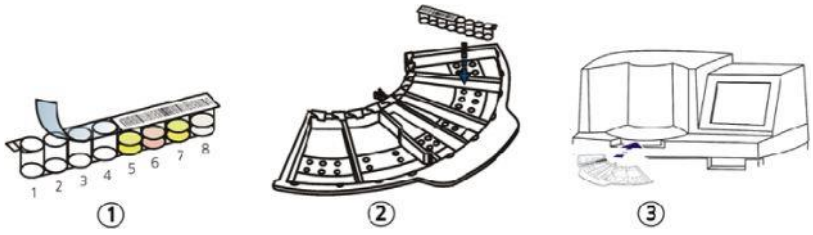
ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®. Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8. Лунка 1: Оставить пустой.

(2) Установите полоску в системный лоток SysTray

(3) Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria® и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически. Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты



КАЛИБРОВКА

Данная тест-система откалибрована в относительных произвольных единицах, т.к. для данного количественного анализа отсутствуют международные эталонные стандарты.

ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Диапазон измерений : не применимо

Ожидаемые значения: Целевые значения и диапазон ожидаемых значений указаны в сертификате анализа.

Линейность: не применимо

Предел обнаружения: не применимо

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: вариация коэффициента (% КВ) была рассчитана по результатам анализа 12 тест-полосок Alegria® ORG 310 на одном приборе Alegria®.
Межаналитическая точность: вариация коэффициента (% КВ) была рассчитана по результатам анализа 12 тест-полосок Alegria® ORG 310 на 7 приборах Alegria®.
В сертификате анализа указано целевое значение для конкретной партии и диапазон его приемлемых значений.

Внутрианалитическая точность		
	Среднее значение	КВ, %
	ед./мл	
ORG 311	0,5	5,7

Межаналитическая точность		
	Среднее значение	КВ, %
	ед./мл	
ORG 311	0,5	7,9

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ
Данная тест-система является принадлежностью к системе Alegria®. Контрольный материал используется для проверки правильности работы анализатора Alegria®. Каждой лаборатории рекомендуется установить свои собственные диапазоны в соответствии с ISO 15189:2007 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетенции» или другими применимыми критериям.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 311_IFU_EN_QM113128_2014-06-26_5*
Причина пересмотра: введение электронной инструкции по применению на домашней странице

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ОРГЕНТЕК Диагностика ГмбХ» (ORGENTEC Diagnostika GmbH)
Карл-Цейс-Штрассе, 49-51, 55129 г.
Майнц, Германия
Тел.: +49 (0) 61 31 / 92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31 / 92 58-58
Веб-сайт: www.orgentec.com

Электронная инструкция по применению: версия

271_2

ORG 271 25-OH Vitamin D3/D2

ЦЕЛЕВОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Набор контрольных материалов для определения антител к 25-OH витамину D_3/D_2 содержит внешние контрольные материалы с определенными концентрациями 25-OH витамина D3/D2 для количественного анализа Alegria® 25-OH Vitamin D3/D2 (код для заказа: ORG 270). Данный продукт предназначен исключительно для диагностики in vitro для профессионального применения.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предприятие-изготовитель
REF	Номер по каталогу
	Достаточно для ... определений
LOT	Код серии
	Дата окончания срока годности.
	Ограничение температуры
	Обратитесь к руководству пользователя
	Не допускать попадания солнечного света
	Не использовать повторно
	Дата изготовления
CE	Маркировка CE в соответствии с Директивой 98/79/EC
271_2	Электронная инструкция по применению: версия
Контроль A	Контроль A
Контроль B	Контроль B
RTU	Готовый к использованию

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Набор контрольных материалов для определения антител к 25-OH витамину D_3/D_2 является принадлежностью для анализа Alegria® 25-OH Vitamin D3/D2 (код для заказа: ORG 270). Контроль A и Контроль B используются так же, как и образец пациента, см. инструкцию по применению ORG 270. Контроль A и контроль B готовы к использованию..

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Все реагенты, входящие в состав этого тест-набора, предназначены исключительно для

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

диагностики in vitro для профессионального применения.

· Компоненты, содержащие сыворотку человека, были проанализированы методами, одобренными Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), и были признаны отрицательными на наличие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Ни одна тест-система не может гарантировать отсутствие ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, поэтому все реагенты данного набора, содержащие сыворотку человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные материалы, подлежащие обращению в соответствии с установленными требованиями.

· Бычий сывороточный альбумин (БСА), используемый в компонентах, был проанализирован на наличие губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота (ГЭКРС). Результаты анализа признаны отрицательными.

· Контроли содержат азид натрия 0,09% в качестве консерванта. Данная концентрация классифицируется как безопасная.

При работе с реагентами соблюдайте действующие правила техники безопасности, установленные для лабораторий, и принципы надлежащей лабораторной практики.

· Меры по оказанию первой помощи: При попадании на кожу немедленно тщательно промойте ее водой с мылом. Снимите загрязненную одежду и обувь и вымойте их перед повторным использованием. При попадании системной жидкости на кожу тщательно промойте водой. При попадании в глаза незамедлительно промыть глаза при открытых веках в течение 10 минут проточной водой. Снимите контактные линзы (при наличии таковых). При необходимости обратитесь к врачу.

· Меры предосторожности, средства индивидуальной защиты и экстренные процедуры:

Соблюдайте правила техники безопасности, установленные для лабораторий. Не допускайте попадания на кожу и в глаза. Не проглатывайте. Пипетирование ртом не допускается. Запрещается есть, пить, курить и наносить макияж в местах работы с образцами или реагентами. Пролитые компоненты и образцы соберите с помощью инертного материала и поместите в соответствующий контейнер для утилизации отходов.

· Контроль воздействия и средства индивидуальной защиты: Используйте защитные перчатки из бутадиен-нитрильного каучука или натурального латекса.

При условии использования по назначению опасные реакции не известны.

· Условия хранения: Контроли являются светочувствительными, их следует хранить в защищенном от света месте.

· При утилизации лабораторных отходов необходимо соблюдать национальное или региональное законодательство.

СОСТАВ НАБОРА

ORG 271		Достаточно для 30 определений
Контроль A	2,5 мл	Контроль A с определенной концентрацией 25-OH витамина D3/D2 (см. этикетку) в трисаминометановом буфере 0.7%, NaCI 0.8% с матрицей сыворотки крови человека, бычьим сывороточным альбумином 0.5% и азидом натрия 0,09% в качестве консервантов. Готов к применению. Хранить при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
Контроль B	2,5 мл	Контроль B с определенной концентрацией 25-OH витамина D3/D2 (см. этикетку) в трисаминометановом буфере 0.7%, NaCI 0.8% с матрицей сыворотки крови человека, бычьим сывороточным альбумином 0.5% и азидом натрия 0,09% в качестве консервантов. Готов к применению. Хранить при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
	1	Сертификат анализа, руководство по эксплуатации

ТРЕБУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ:

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Пипетка на 80 мкл.
- Код заказа тест-системы Alegria® ORG 270: 25-OH Vitamin D_3/D_2

Набор контрольных материалов для определения антител к 25-OH витамину D_3/D_2 может использоваться вместе с диагностическим прибором Alegria® – полностью автоматизированным анализатором с произвольным доступом.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- Хранить при температуре 2-8°C в месте, защищенном от света.
- Не допускать воздействия тепла, солнечных лучей и яркого света во время хранения и использования.
- Невскрытые контроли стабильны до даты истечения срока годности. На этикетках каждой серии приводится дополнительная информация.
- После вскрытия продукт следует использовать в течение 4 месяцев.

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ И ОБРАЩЕНИЕ

Не применимо

ПРИМЕЧАНИЯ ПО ПРОЦЕДУРЕ

- Запрещается использовать компоненты комплекта по окончании срока годности.
- Перед использованием все материалы должны быть приведены к комнатной температуре (20-28 °C).
- Во избежание переноса и загрязнения необходимо менять наконечник пипетки для каждого образца.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Контроль A и контроль B готовы к использованию.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТА

Тест-полоски 25-OH Vitamin D2/D3 Alegria® с технологией SMC® используются вместе с диагностическим прибором Alegria®.

Подробная информация о работе с прибором изложена в Руководстве по эксплуатации прибора.

(1) Удалите фольгу с пустых лунок 1-4 тест-полоски Alegria®.

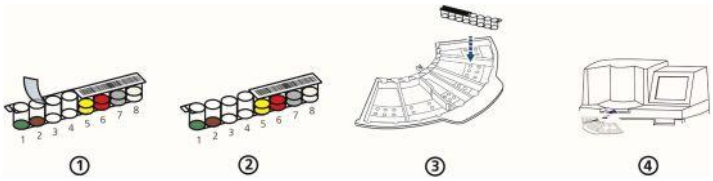
Запрещается снимать фольгу со штрихкодом, которая закрывает лунки 5-8.

(2) При помощи пипетки перенесите **80** мкл Контроля A или Контроля B на дно лунки 1.

(3) Установите полоску в системный лоток SysTray. Установите лоток SysTrays с тест-полосками в анализатор Alegria®
и запустите устройство. Дальнейшие действия будут выполнены автоматически.

Серия исследований завершена, когда прибор начинает печатать результаты.

Внимание: Тест-полоски Alegria® 25-OH Vitamin D3/D2 требуют особого обращения, поэтому их нельзя использовать параллельно с другими тестами Alegria® в одной серии испытаний.



Калибровка

Калибровка прослеживается по эталонному препарату ID-LC/Tandem MS REFI25OHD (Labquality, IDAS).

Вычисление результатов

С помощью технологии SMC® (Sensotronic Memorized Calibration - сенсотронная калибровка с эффектом памяти) все данные исследований передаются в систему через отдельные штрихкоды на тест-полоске Alegria®. Расчет и вычисление результатов выполняются автоматически.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диапазон измерений
Не применимо

Ожидаемые значения
Ожидаемая концентрация 25-OH витамина D3/D2 и допустимый диапазон : см. этикетку

Линейность
Не применимо

Предел обнаружения
Не применимо

Воспроизводимость
Внутрианалитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех лотов Контроля А и Контроля В по результатам 24 определений за одну серию анализов. Результаты определения точности внутри серии анализа приводятся в следующей таблице
Межаналитическая точность: коэффициент вариации (КВ) рассчитали для каждого из трех лотов Контроля А и Контроля В по результатам 6 определений за одну серию анализов. Результаты определения точности между сериями анализа приводятся в следующей таблице.

Внутрианалитическая точность		
Контроль А	Среднее значение	КВ, %
	нг/мл	
Лот 1	16,4	5,4
Лот 2	18,5	6,7
Лот 3	16,5	5,6

Внутрианалитическая точность		
Контроль В	Среднее значение	КВ, %
	нг/мл	
Лот 1	62,9	5,8
Лот 2	71,2	8,2
Лот 3	56,3	12,0

Межаналитическая точность		
Контроль А	Среднее значение	КВ, %
	нг/мл	
Лот 1	18,4	11,3
Лот 2	18,3	17,0
Лот 3	18,6	9,8

Межаналитическая точность		
Контроль В	Среднее значение	КВ, %
	нг/мл	
Лот 1	60,2	10,0
Лот 2	61,2	10,9
Лот 3	62,6	8,4

Субстанции, создающие помехи для анализа
Не применимо

Результаты исследования
Не применимо

Ограничения
Не применимо

СПРАВОЧНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Ashraf, A. et al. Threshold for effects of vitamin D deficiency on glucose metabolism in obese female African- American adolescents. J Clin Endocrinol Metab 94 (9):3200-3206, 2009.
2. Baker, A. M. et al. A nested case-control study of midgestation vitamin D deficiency and risk of severe preeclampsia. J Clin Endocrinol Metab 95 (11):5105-5109, 2010.
3. Crew, K. D. et al. Association bPriemeretween plasma 25-hydroxyvitamin D and breast cancer risk. Cancer Prev Res (Phila) 2 (6):598-604, 2009.
4. Cutolo, M. Vitamin D and autoimmune rheumatic diseases. Rheumatology (Oxford), 48 (3): 210-212, 2009

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), (ÖGE), (SGE), (SVE), Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, Vitamin D. 2012; ISBN 978-3-86528-128-9.
6. Garland, C.F. et al. Vitamin D for Cancer Prevention: Global Perspective. Ann. Epidemiol. 2009; 19: 468-483.
7. Hayek J. El, G. Egeland, and H. Weiler. Vitamin D status of Inuit preschoolers reflects season and vitamin D intake. J Nutr 140 (10):1839-1845, 2010.
8. Holick, M.F. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. J Clin Invest 116 (8):2062-2072, 2006.
9. Holick, M.F. Vitamin D deficiency. N. Engl. J.M. 2007, 357: 266-281.
10. Holick, M.F. Sunlight and Vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancer and cardiovascular disease. Am. J.Clin. Nutr. 2004; 80: 1678-1688.
11. Hollis B.W. Measuring 25-hydroxyvitamin D in a clinical environment: challenges and needs. Am. J. Clin. Nutr. 2008; 88: 507S-10S.
12. Houghton L.A. and Vieth R. The case against ergocalciferol (vitamin D2) as a vitamin supplement. Am. J. Clin. Nutr. 2006; 84:694-697.
13. Jorde, R. et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels are strongly related to systolic blood pressure but do not predict future hypertension. Hypertension 55 (3):792-798, 2010.
14. Kamen, D. L. and Alele, J. D. Skeletal manifestations of systemic autoimmune diseases. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 17 (6):540-545, 2010.
15. Krasowski, M. D. Pathology consultation on vitamin D testing. Am J Clin Pathol 136 (4):507-514, 2011.
16. National Osteoporosis Society 2013, Vitamin D and Bone Health: A Practical Clinical Guideline for Patient Management.
17. Sen, D. and Ranganathan, P. Vitamin D in rheumatoid arthritis: panacea or placebo? Discov Med 14 (78):311 -319, 2012.
18. Wen, H. and Baker, J. F. Vitamin D, immunoregulation, and rheumatoid arthritis. J Clin Rheumatol 17 (2): 102 -107, 2011.
19. Zerwekh, J.E. Blood biomarkers of Vitamin D status, Am. J.Clin. Nutr. 2004; 87: 1087-91.

Уведомление для пользователя (Европейский Союз):
Производитель и компетентные органы страны-участницы ЕС, где находится пользователь и (или) пациент, должны быть проинформированы обо всех серьезных инцидентах, произошедших с данным продуктом.

Контроль за изменениями
Предыдущая версия: *ORG 270_IFU_EN_QM130718_2016-01-21_4*
Причина пересмотра: Разработано отдельное руководство по эксплуатации для продукта ORG 271

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru