

Sm-Ab IΦA

REF RE75221

 **96**

   **2-8°C**

EU: **IVD**  



I B L I N T E R N A T I O N A L G M B H

Flughafenstrasse 52a
D-22335 Гамбург, Німеччина

Телефон: +49 (0)40-53 28 91-0
Факс: +49 (0)40-53 28 91-11

IBL@IBL-International.com
www.IBL-International.com

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1,
тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Імуноферментний аналіз для якісного і кількісного визначення IgG антитіл проти Sm в сироватці людини.

2. КОРОТКИЙ ОПИС І ПОЯСНЕННЯ

Урацил-багатий, малі ядерні РНК (U-мРНК) фізіологічно в комплексі з білками рибонуклеопротейдних частинок (U-snRNP), які беруть участь в процесі сплайсингу пре-мРНК. Різні комплекси (U1-U6) можна виділити відповідно до участі РНК; їх білкові компоненти є частиною загального, в частині відрізняються. Sm аутоантитіла (так зване відповідно до першого описаного пацієнта Smith) спрямовані проти тих білків, які є загальними для всіх РНП. Найбільші з них є В, В' і D (28, 29, 16 кДа). Ці антитіла є високо специфічними для системного червоного вовчака (ВКВ), але володіють лише обмеженою чутливістю (<30%).

3. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Твердофазний імуноферментний аналіз (ІФА), заснований на принципі сендвіча. Лунки покриті антигеном. Специфічні антитіла зразка зв'язування з антигенним покриттям лунок виявляються вторинним ферментом кон'югованого антитіла (Е-Аб), специфічного для людського IgG. Після реакції субстрату інтенсивність забарвлення розвиненого пропорційна кількості IgG-специфічних антитіл виявлених. Результати зразків можуть бути визначені безпосередньо за допомогою стандартної кривої.

4. ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ЩОДО ВИКОРИСТАННЯ І ПОПЕРЕДЖЕННЯ

1. Тільки для діагностики в лабораторних умовах. Тільки для професійного використання.
2. Перед початком аналізу, прочитайте інструкцію повністю й уважно. Використовуйте чинну версію інструкції, вкладену в упаковку набору. Переконайтеся, що все зрозуміло.
3. У разі серйозного пошкодження упаковки набору, будь ласка, зв'яжіться з IBL або постачальником в письмовій формі, не пізніше ніж через один тиждень після отримання набору. Ніколи не використовуйте пошкоджені компоненти в тестових прогонах, але зберігання безпечно для вирішення скарг і пов'язаних з цим питань.
4. Беріть до уваги номер партії і термін придатності. Не змішувати реагенти різних партій. Не використовуйте прострочені реагенти.
5. Дотримуйтесь рекомендацій належної лабораторної практики і безпеки. Носіть халати, одноразові латексні рукавички і захисні окуляри, де це необхідно.
6. Реагенти даного набору, що містять небезпечний матеріал можуть викликати подразнення очей і шкіри. див МАТЕРІАЛИ КОМПЛЕКТАЦІЯ і етикетки для деталей. Паспорти безпеки для даного продукту доступні на IBLHomepage або за запитом безпосередньо у IBL.
7. Хімікати і підготовлені або використані реагенти повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до національного законодавства щодо біологічно небезпечних речовин і правил техніки безпеки .
8. Уникайте контакту з стоп-розчином. Це може викликати роздратування шкіри і опіки.
9. Деякі реагенти містять азид натрію (NaN₃) в якості консервантів. При попаданні в очі або на шкіру, промийте відразу ж з водою. NaN₃ може вступати в реакцію зі свинцем і міддю і формувати вибухонебезпечні азида металів. При утилізації реагентів промити з великим об'ємом води, щоб уникнути нарощування азида.
10. Всі реагенти даного набору, що містять людську сироватку або плазму, були випробувані і були виявлені негативними для анти-BL I / II, HBsAg і анти-HCV. Проте, присутність цих або інших інфекційних агентів не може бути виключена абсолютно і тому реагенти слід розглядати як потенційно інфіковані у використанні і для видалення.

5. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Набір постачається при температурі навколишнього середовища і повинен зберігатися при температурі 2-8 ° С. Тримати подалі від тепла або прямих сонячних променів. Зберігання і стабільність зразка і підготовлених реагентів вказані у відповідних розділах.

Стріпи мікропланшету стабільні до закінчення терміну придатності набору в зламаному, але щільно закритому пакеті при зберіганні при температурі 2-8 ° С, разом з осушувачем.

6. ЗБІР І ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКІВ

сироватка

Звичайних застережних заходів для венепункції слід дотримуватися. Важливо зберегти хімічну цілісність зразка крові з моменту його збору до моменту аналізу. Не застосовувати препарати сильно гемолітичні, жовтяничні або грубо ліпемічні зразки. Зразки з каламутним слідом центрифугувати до тестування для видалення будь-якого матеріалу у вигляді частинок.

Зберігання:	2-8 ° C	-20 ° C	Тримати подалі від тепла або прямого сонячного світла. Уникайте повторних циклів заморожування-відтавання
стабільність	3 дні	> 3 днів	

7. МАТЕРІАЛИ КОМПЛЕКТАЦІЯ, ЩО ПОСТАЧАЮТЬСЯ

Кількість	позначення	компонент
1 x 12 x 8	MTP	Мікропланшет. Стріпи, що відламуються. Покритий з високо очищеними білками B, B' і D від великої рогатої худоби тимус.
1x14 мл	ENZCONJ IgG	Ферментний кон'югат IgG Готовий до використання, червоного кольору. Містить: анти-людський IgG, кон'югований з пероксидазою, Блок, що містить буфер і консерванти.
1x6x2 мл	CAL A-F	Калібратор A-F 0; 0,4; 1.2; 4,0; 12; 40 Од / мл. Готовий до використання, поступово синього кольору. Містить: IgG антитіла проти Sm, TBS і консерванти
1x2 мл	CONTROL +	Позитивний контроль готовий до використання, окрашений червоним. Містить : IgG антитіла проти Sm, TBS і консерванти
1x2 мл	CONTROL -	КОНТРОЛЬ-негативний контроль готовий для використання, зеленим окрашений. Містить: ТБС і консерванти
1x100 мл	SAMPLEDIL	Розчинник зразка. Готовий для використання, помаранчевий колір. Містить : ТМБ і консерванти.
1x14 мл	TMB SUBS	ТМБ розчин субстрату годен до використання, безбарвний. Містить: ТМБ, водню пероксид
1x 100 мл	WASHBUF CONC	Промивний буфер , концентрат (10x). Синій колір. Містить : TBS і консерванти.
1x14 мл	STOP	ТМБ стоп розчин готовий до використання, безбарвний. 0.2 M H ₂ SO ₄ .

8. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

1. Дозатори (Multipette Eppendorf або аналогічні пристрої, <3% CV). Обсяги: 5; 100; 500 мкл.
2. Калібровані міри.
3. Пробірки (1 мл) для розведення зразка.
4. 8-канальні мікропіпетки з резервуарами реагентів.
5. Промивна пляшка, автоматизована або напівавтоматична система промивки мікропланшетів.
6. Рідер мікропланшетів, здатний вимірювати оптичну щільність при 450 нм (еталонна довжина хвилі 600-650 нм)
7. Бідистильована або дейонізована вода.
8. Паперові рушники, піпетки і таймер.

9. ПРОЦЕДУРА ПРИМІТКИ.

1. Будь-яке неправильне поводження зі зразками або модифікації процедури випробувань можуть вплинути на результати. Зазначені обсяги піпетування, час інкубації, температура і стадія попередньої обробки повинні бути виконані строго відповідно до інструкцій, тільки за допомогою каліброваних піпеток і пристроїв.
2. Після початку тесту всі кроки повинні бути завершені без перерви. Переконайтеся, що необхідні реагенти, матеріали та пристрої приготовлені в потрібний час. Дозволити всім зразкам і реагентам досягти кімнатної температури (18-25 ° C) і обережно струсити кожен флакон рідкого реагенту і зразка перед використанням. Змішайте реагенти без піноутворення.
3. Уникати забруднення реагентів, піпеток і лунок / пробірок. Використовуйте нові одноразові пластикові наконечники піпеток для кожного компонента і зразка. Не міняти місцями кришки. Завжди закривайте ковпачком флакони, що не використовуються. Не використовуйте повторно лунки/пробірки або реагенти.
4. Використовуйте схему піпетування для перевірки відповідного макету пластини.
5. Час інкубації впливає на результати. Всі лунки повинні бути оброблені в одних і тих же послідовності, порядку і терміни. Рекомендовано використовувати 8-канальні мікропіпетки для піпетування розчинів у всіх лунках.
6. Промивка мікропланшетів важлива. Неправильно промиті лунки будуть давати помилкові результати. Рекомендовано використовувати багатоканальну піпетку або автоматичну систему промивання мікропланшетів. Не дозволяйте лункам висихати між інкубаціями. Не подряпайте лунки з покриттям під час промивання і аспірації. Промити і заповнити всі реагенти з обережністю. Під час промивання, перевірте, що всі лунки заповнені точно з промивним буфером, і що немає залишків в лунках.
7. Вологість впливає на покриті лунки / пробірки. Не відкривайте пакет, поки він не досягне кімнатної температури. Невикористані лунки / пробірки повинні бути негайно повернуті в герметизований пакет, включаючи осушувач.

10. Передтестова інструкція з встановлення

10.1. Підготовка компонентів.

Розчинити/розвести	компонент		розчинник	співвідношення	зберігання	стабільність
100 мл	WASHBUF CONC	Добавити 1000 мл	Бідистильована вода	1:10	2-8°C	4 тижня

10.2 . Розведення зразків

зразок	До розведення	З	співвідношення	примітка
сироватка	В цілому	SAMPLEDIL	1:101	наприклад 5 мкл +500 мкл

Зразки, що містять концентрації вище, ніж найвищий калібратор, повинні бути розведені надалі.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ.

1. Безпосередньо перед застосуванням, промити тверду фазу один раз: заповнити лунки по 300 мкл промивного буфера кожну, замочити близько 10 секунд в лунках і видалити.
2. Прокапати по 100 мкл кожного калібратора, контролю і розведеного зразка до відповідних лунок мікропланшету. Достовірність аналізу може бути поліпшена за рахунок дублювання визначень.
3. Інкубувати 30 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) .
4. Видалити інкубаційний розчин. Промивають планшет 3 x 300 мкл розведеного промивного буфера. Видалити надлишок розчину, натиснувши перевернутим мікропланшетом на паперовий рушник.
5. Прокапати 100 мкл ферментного кон'югату в кожну лунку.
6. Інкубувати 30 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C).
7. Видалити інкубаційний розчин. Промивають планшет 3 x 300 мкл розведеного промивного буфера. Видалити надлишок розчину, натиснувши на перевернутим мікропланшетом на паперовий рушник.
8. Для додавання субстрату і стоп розчину, використовуйте, якщо такі є, 8-канальні мікропіпетки. Піпетування повинно здійснюватись в одних і тих же тимчасових інтервалах для субстрату і стоп-розчину. Використовуйте позитивне зміщення і уникайте утворення повітряних бульбашок.
9. Внесіть 100 мкл ТМБ розчину субстрату в кожну лунку.
10. Інкубувати 30 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C) (захистити від прямого сонячного світла) .

11. Зупиніть реакцію додаванням 100 мкл ТМБ стоп-розчину в кожен лунку. Коротко змішати зміст, обережно струшуючи пластину. Колір змінюється від синього до жовтого.

12. Вимірювання оптичної густини (ОГ) за допомогою фотометра при 450 нм (референтна довжина хвилі: 600-650 нм) на протязі 30 хв після піпетування стоп-розчину.

12. Контроль якості

Результати випробувань дійсні тільки якщо тест був виконаний відповідно до інструкцій. Крім того, користувач повинен строго дотримуватися правил НЛП (належної лабораторної практики) або інших стандартів, які можна застосовувати.

Позитивний і негативний контроль повинні бути знайдені в межах прийнятних діапазонів, зазначених у сертифікаті контролю якості. Якщо критерії не виконуються, пробіг не є дійсним і повинен бути повторений. Кожна лабораторія повинна використовувати відомі зразки в якості додаткових контролів.

У разі будь-яких відхилень наступні технічні питання повинні бути доведені: дата закінчення терміну придатності (підготовлених) реагентів, умови зберігання, піпетки, прилади, умови інкубації і методи промивки.

Рекомендується взяти участь у відповідних дослідженнях з оцінки якості.

13. РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Отримані дані кількісно оцінені за допомогою стандартної кривої з використанням звичайної ІФА програми оцінки, як показано в прикладі нижче. Гарні результати забезпечуються функцією 4-х параметрів або сплайн. В якості альтернативи, стандартна крива може бути також намальована вручну на полу-логіфімічному міліметровому папері. Отримані величини оптичної щільності (ОЩ) калібраторів (у-вісь, лінійна) наведені в залежності від їх концентрації (вісь x, логарифмічна).

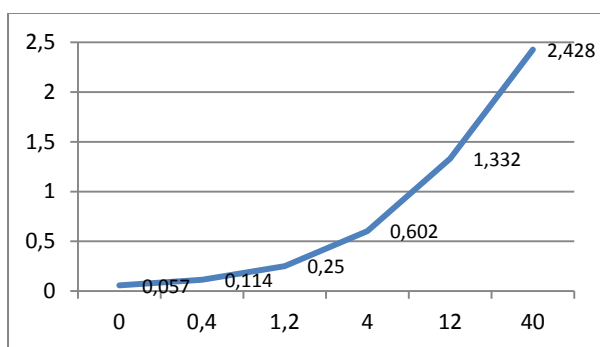
Концентрацію зразків можна зчитувати безпосередньо зі стандартною кривою. Початкове розведення буде братися до уваги при читанні результатів від графіка. Результати зразків вищого розведення повинні бути помножені на коефіцієнт розведення.

Зразки, що показують концентрації вище найвищого калібратора повинні бути розведені, як описано в передтестовій інструкції з налаштування і повторно досліджені.

Типова крива калібрування

(Приклад: Не використовуйте для розрахунку!)

калібратор	Од/мл	Значення ОГ
A	0	0.057
B	0.4	0.114
C	1.2	0.250
D	4.0	0.602
E	12	1.332
F	40	2.428



U Sm-Ab / мл

Тест також може бути оцінений в якісному методі. Це вимагає вимірювання тільки позитивні КОНТРОЛЬ. Проте, вимір і вивчення негативного контролю рекомендується (див: КОНТРОЛЬ якості).

У якісній оцінці тесту, оптична густина (ОГ) зразків порівнюється з пороговою ОГ (= пороговий). Порогові ОГ визначаються у відповідності з наступною формулою:

ОГ порогова = ОГ позитивного контролю x коефіцієнт

Коефіцієнт залежить від набору партії і котирується в партії конкретного сертифіката QC, який входить до складу кожного тестового набору. приклад:

ОГ позитивного контролю = 1,250

коефіцієнт = 0,35

ОГ порогова = 1,250 x 0,35 = 0,438

Для того, щоб отримати уявлення про ступінь реактивності в зразку, можна розрахувати співвідношення, відповідно до наведеної нижче формули. Не забудьте відняти калібратор А оптичну густину від оптичної густини зразка до розрахунку співвідношення.

Співвідношення = ОГ зразка / ОГ порогова

приклад:

ОГ порогова = 0,438

ОГ зразка = 1,480

Співвідношення = 1,480 / 0,438 = 3,4

14. Інтерпретація РЕЗУЛЬТАТІВ

Інтерпретація	Кількісне визначення (од/мл)	Якісне визначення співвідношення
негативний	< 3.2	< 0.84
пороговий	4,0	1,00
сумнівний	3,2-5,0	0,84-1,19
позитивний	> 5.0	> 1.19

Самі по собі результати не повинні бути єдиною причиною для будь-яких терапевтичних наслідків. Вони повинні бути співвіднесені з іншими клінічними спостереженнями і діагностичними тестами.

15. Очікувані ЗНАЧЕННЯ

У сироватках колективу 160 донорів крові, рівномірно розподілених за статтю та віком, наступний розподіл аналіту був визначений:

Середнє: 0,50 Од / мл

Середнє + 2 SD: 0,81 Од / мл

Медіана: 0,48 Од / мл

95% процентилю: 0,80 Од / мл

16. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Забір має суттєвий вплив на результати випробувань. Див Забір і ЗБЕРІГАННЯ для деталей.

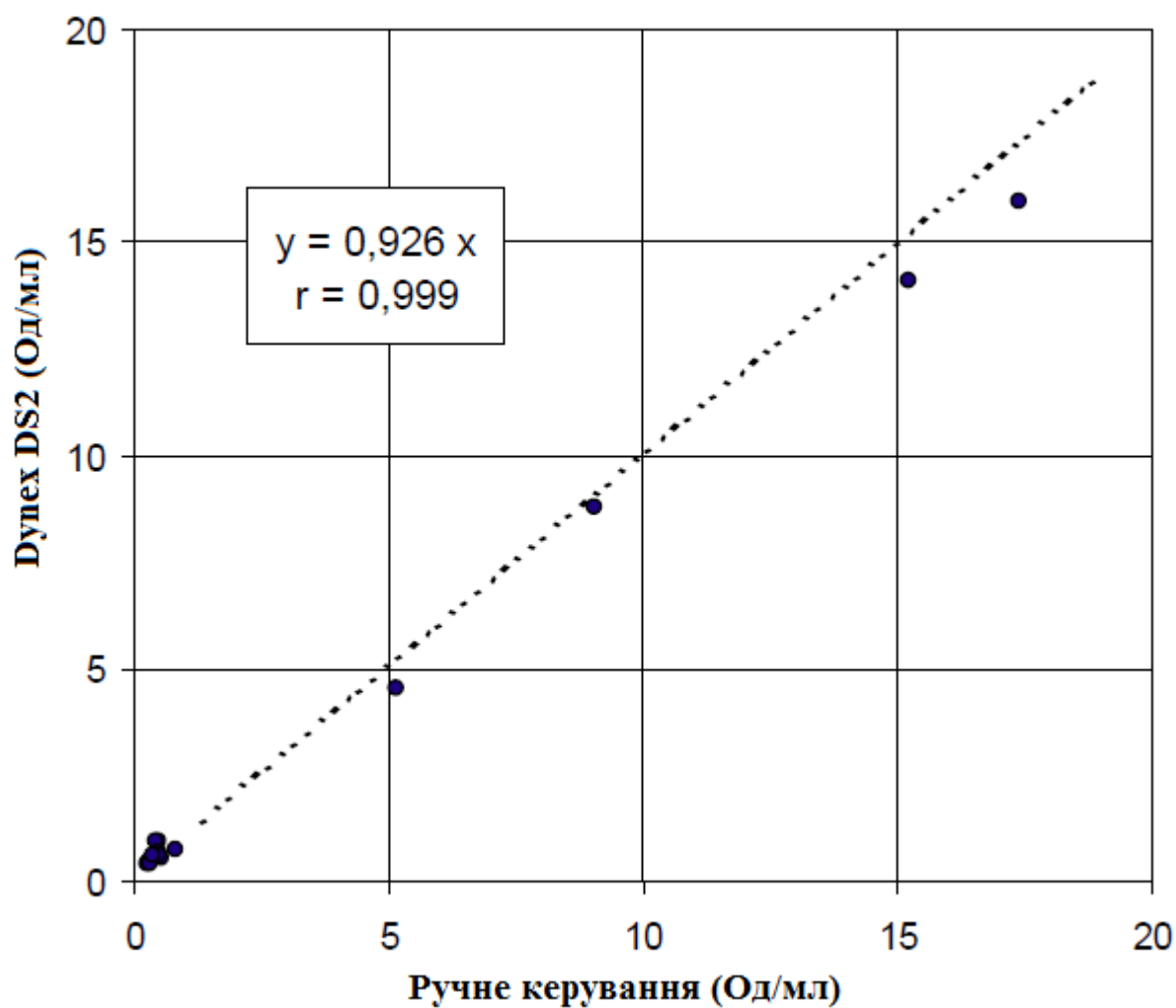
Азид і тимеросал в концентраціях > 0,1% втручаються в даному аналізі, і можуть привести до помилкових результатів.

17. ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ

Аналітична чутливість	Межа виявлення (3 x СВ- буфера зразка) <0,2 Од / мл (кількість= 24)		
Аналітична специфічність	Специфічний для людського IgG проти Sm		
Точність	В аналізі варіація (кількість=24)		Між аналізами варіація (кількість=72)
	Середнє (од/мл)	% CV	Середнє (од/мл) % CV
	4.7	1.7	4.7 3.6
	9.0	1.4	9.0 4.6
	17	2.9	17 6.0
	Оператор до оператора варіація (кількість=12)		Варіація між 2 лотами набору (кількість=6)
	Середнє (од/мл)	% CV	Середнє (од/мл) % CV
	4.5	3.2	4.7 4.8
	8.5	2.5	8.8 3.8
	16	2.8	16 1.6
лінійність	Діапазон (од/мл=0.1-34,4)	Послідовне розведення до 1:128	Кількість=3

18. АВТОМАТИЗАЦІЯ

Ручна версія Dynex DS2



Варіабельність : використання зразка одного і того ж лоту набору , порівнювали варіабельність результатів аналізу між ручним виконанням і Dynex DS2 автоматизованою системою ІФА

	Ручна операція	Dynex DS2
В аналізі варіабельність (кількість=16) CV середнє	CV середнє=2,3%	CV середнє=2,4%
Між аналізами варіабельність (кількість=48) CV середнє	CV середнє=3,9%	CV середнє=3,2%

19. ЛІТЕРАТУРА

1. Tan, E. M., Kunkel, H. G.: Characteristics of a soluble nuclear antigen precipitating with sera of patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 96 (1966), 464 - 471
2. Mattioli, M., Reichlin, M.: Characterization of a soluble nuclear ribonucleoprotein antigen reactive with SLE sera. *J Immunol* 107 (1971), 1281 - 1290
3. Messinger, M.: Autoantikörper bei systemischen entzündlich-rheumatischen Erkrankungen (Kollagenosen). In: L. Thomas (ed.): *Labor und Diagnose* (2005), TH-Books-Verlags-Gesellschaft, Frankfurt/Main, 1139 - 1161
4. Peng, S. L., Craft, J. E.: Splicosomal snRNPs autoantibodies. In: Peter, J. B., Shoenfield, Y. (eds.): *Autoantibodies* (1996), Elsevier Science, Amsterdam, 774 - 782
5. Abuaf, N., et al.: Detection of autoantibodies to Sm antigen in systemic lupus erythematosus by immunodiffusion, IFA and immunoblotting: variability of incidence related to assay and ethnic origin of patients. *Eur J Clin Invest* 20 (1990), 354 - 359
6. Habets, W. J., et al.: Small nuclear RNA-associated proteins are immunologically related as revealed by mapping of autoimmune reactive Bcell epitopes. *Proc Natl Acad Sci USA* 86 (1989), 4674 - 4678
7. Smolen, J. S., et al.: Antibodies to antinuclear subsets in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 8, suppl. 5 (1990), 41 - 44
8. De Keyser, F., et al.: Cross-reactivity of the B/B' subunit of the Sm ribonucleoprotein autoantigen with proline-rich polypeptides. *Clin Immunol Immunopathol* 62 (1992), 285 - 290
9. Sommer, R., Eitelberger, F.: Wertigkeit der Gliadin-Antikörper im Serum zur Diagnose der Zöliakie. *Wien Klin Wochenschr* 104/4 (1992), 86 - 92

УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

REF	№ Кат.:
LOT	№ Партії:
	Використати до:
	Кількість тестів:
CONC	Концентрат
LYO	Ліофілізований
IVD	Медичний пристрій для діагностики in vitro
	Оціночний набір
	Прочитайте інструкцію перед використанням
	Зберігати поодаль від джерел тепла і прямого сонячного світла.
	Зберігати при температурі:
	Виробник:
	Увага!
Умовні позначення компонентів див. у розділі «Матеріали, що входять до набору».	

СКАРГИ: Первинно скарги можна пред'явити в письмовому вигляді або усно. Згодом необхідно подати їх, включаючи хід дослідження та отримані результати, в письмовому вигляді, з аналітичних міркувань.

ГАРАНТІЯ: Гарантується відсутність у продукті дефектних матеріалів у межах відповідного терміну придатності, а також дотримання специфікацій, поданих разом із продуктом. Продукт слід використовувати за призначенням, відповідно до всіх інструкцій, наведених в інструкції з використання та в межах відповідного терміну придатності продукту. Будь-яка модифікація процедури аналізу, або обміну, або змішування компонентів різних партій може негативно вплинути на результати. Ці випадки анулюють будь-які вимоги про заміну.

ОБМЕЖЕННЯ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ: ЗА БУДЬ-ЯКИХ ОБСТАВИН РІВЕНЬ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ ВИРОБНИКА ОБМЕЖУЄТЬСЯ ЗАКУПІВЕЛЬНОЮ ВАРТІСТЮ ВКАЗАНОВОГО (-ИХ) НАБОРУ (ІВ). ЗА ЖОДНИХ УМОВ ВИРОБНИК НЕ МАЄ НЕСТИ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ ЗА ВИПАДКОВІ ЧИ ПОБІЧНІ ЗБИТКИ, У ТОМУ ЧИСЛІ ВТРАТУ ПРИБУТКУ, ВТРАТУ ПРОДАЖ, ТРАВМИ ЛЮДЕЙ ЧИ ПОШКОДЖЕННЯ ВЛАСНОСТІ АБО ІНШІ ВИПАДКОВІ ЧИ НЕПРЯМІ ЗБИТКИ.

	IBL International GmbH	Тел.:	+ 49 (0) 40 532891 -0 Факс: -11
	Flughafenstr. 52A, 22335 Гамбург,	E-MAIL:	IBL@IBL-International.com
	Німеччина	WEB:	http://www.IBL-International.com

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua