



**Інструкція**  
**з використання тест-системи для визначення антитіл до ДНК**  
**(нативної, денатурованої, формалінізованої) в сироватці крові**  
**АТ до ДНК-ІФА**

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Набір розрахований на 96 визначень з урахуванням холостих і калібрувальних проб при витраті реактивів відповідно цієї методики.

**Принцип методу**

У наданій тест-системі використовується принцип непрямого імуноферментного аналізу. У лунки планшета з іммобілізованими антигенами (ДНК нативної, денатурованої, формалінізованої) вносять досліджуваний зразок. АТ до ДНК із зразка зв'язуються з антигенами на поверхні лунок. Незв'язаний матеріал видаляється відмивкою. У лунку вносять кон'югат (антитіла проти IgG людини, мічені пероксидазою). Після повторної відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату та вимірюється при довжині хвилі 450 nm (нм). Інтенсивність кольорової реакції прямо пропорційна кількості АТ до ДНК у зразку.

**Клінічне значення**

Антитіла до нативної двоспиральної ДНК (нДНК) спрямовані проти структур ядра клітини. Високоспецифічні для системного червоного вовчаку (СЧВ), виявляються під час активної фази у високих титрах. Визначення АТ до нДНК використовують для моніторингу терапії даного захворювання. Рівень АТ корелює з тяжкістю захворювання та наявністю гломерулонефрита, що дозволяє оцінити ризик та тяжкість вовчаного нефриту. Одноразове підвищення визначення АТ до нДНК дозволяє зробити діагностичний, але не прогностичний висновок. Відсутність зниження рівня антитіл або його наростання є несприятливою прогностичною ознакою. Антитіла можуть зникати при ремісії захворювання. Рідше і в більш низькій концентрації АТ до нДНК зустрічаються при інших дифузних хворобах сполучної тканини. При активному ревматичному процесі та ревматоїдному артриті, склеродермії, особливо при її активних та злоякісних формах, хворобі Рейно також відзначається значне підвищення антитіл до нативної ДНК. В ряді випадків ці антитіла можна виявити при вираженій активності хронічного активного гепатиту чи хворобі Шегрена, біліарному цирозі, хронічному вірусному гепатиті, цитомегаловірусній інфекції, онко захворюваннях, медикаментозній терапії та ін.

Антитіла до денатурованої ДНК (дДНК) виявляють при тих же захворюваннях, що нДНК, але для СЧВ це менш специфічно. Однак, у зв'язку з тим, що дДНК більш імуногенна, ніж нДНК, визначення антитіл тільки до дДНК дозволяє виявити виникнення захворювання в більш ранні терміни. Одночасне визначення антитіл до нДНК і дДНК збільшує діагностичну значимість цих антитіл. В активній фазі СЧВ антитіла до дДНК зустрічаються в 80-90% випадків.

Антитіла до односпиральної формалінізованої ДНК (фДНК) широко зустрічаються як в нормі, так і при різноманітних системних захворюваннях сполучної тканин, інфекційних процесах (напр. туберкульозі), вірусних захворюваннях.

**Склад набору**

1. Планшет з іммобілізованими антигенами: 1-4 стрипи – нативна ДНК, 5-8 – денатурована ДНК, 9-12 – формалінізована ДНК; 8x12 лунок (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. Набір контролів, 1.2 ml (мл) (2 фл.)
4. Буфер для розведення зразків, концентрат 10x, 10 ml (мл) (1 фл.)
5. Відмиваючий розчин, концентрат 20 x, 22 ml (мл) (1 фл.)
6. Кон'югат, 11 ml (мл) (1 фл.)
7. Субстрат, 11 ml (мл) (1 фл.)
8. Зупиняючий розчин, 11 ml (мл) (1 фл.)
9. Інструкція з використання
10. Паспорт

**Аналітичні характеристики**

Очікуванні межі оптичної щільності негативного контролю 0.1-0.35 оптичних одиниць (ОО).  
Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

**Матеріал для дослідження**

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 h (год) при 4-10°C. Довгострокове зберігання допускається в замороженому вигляді при температурі -20°C. Повторне заморожування-відтавання не допускається. Не використовуйте мутні, хильозні та гемолітичні зразки.

**Перелік необхідного устаткування**

Автоматичні одно- та багатоканальні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 5-1000  $\mu$ l (мкл).  
Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 nm (нм).

**Підготовка реагентів**

1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 min (хв). До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшету, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте у 20 разів дистильованою водою в чистому посуді (1 ml (мл) концентрату + 19 ml (мл) дистильованої води). Отриманий розчин стабільний протягом 5 d (доб) при кімнатній температурі або 30 d (доб) у холодильнику 4-10°C.
3. Приготуйте необхідну кількість розчину буферу для розведення зразків. Для цього концентрат розбавте у 10 разів дистильованою водою в чистому посуді (1 ml (мл) концентрату + 9 ml (мл) дистильованої води). Отриманий розчин стабільний протягом 5 d (доб) при кімнатній температурі або 30 d (доб) у холодильнику 4-10°C.
4. Підготовка досліджуваних зразків: перед дослідженням 10  $\mu$ l (мкл) сироватки розводять в 1 ml (мл) буферу для розведення зразків.  
Не розбавляйте контрольні зразки!

**Проведення аналізу**

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів – 12 лунок для контролів та зразків в 2 повторях.
2. Внесіть у лунки 100  $\mu$ l (мкл) контролів та досліджуваних зразків.
3. Інкубуйте 40 min (хв) при температурі 20-25°C, періодично струшуючи або на шейкері.
4. Відмийте стрипи 3 рази відмиваючим розчином.
5. Внесіть у лунки 100  $\mu$ l (мкл) кон'югату.
6. Інкубуйте 40 min (хв) при температурі 20-25°C, періодично струшуючи або на шейкері.
7. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
8. Внесіть у лунки 100  $\mu$ l (мкл) субстрату.
9. Інкубуйте **15-20** min (хв) при температурі 20-25°C в темному місці.
10. Внесіть у лунки 100  $\mu$ l (мкл) зупиняючого розчину.
11. Не більше як через 5 min (хв) виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на фотометрі при довжині хвилі 450 nm (нм). Бланк фотометра виставляйте проти повітря.
12. Визначте концентрацію АТ до ДНК в досліджуваних зразках по формулі.

**Примітки**

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Після використання реагенту негайно закривайте кожен флакон своєю кришкою.
3. Усі проби і стандарти бажано ставити в двох повторях.
4. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250  $\mu$ l (мкл) розчину ФСБ в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко перегорніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

**Оцінка результатів дослідження**

Для визначення наявності антитіл використовують індекс реакції (ІР):

$$IP = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{нег}}}$$

де:  $E_{\text{дос}}$  - оптична щільність досліджуваної сироватки,

$E_{\text{нег}}$  - оптична щільність негативного контролю.

**Референтні величини**

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

IP >1.9 свідчить про наявність антитіл. Враховуючи можливу похибку аналізу, досліджувану сироватку вважають позитивною при IP >2.0.

IP ≤2.0 проба вважається негативною.

**Зберігання та стабільність**

Після розкриття пакета ретельно заклейте лунки, що залишилися, стрічкою для заклеювання, щоб запобігти впливу вологи під час зберігання.

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Не допускається замороження!

**Вимоги безпеки та утилізації**

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

**Транспортування**








Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.

Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37°C не більше 72 h (год).

**Гарантії виробника**

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

**Символи на продукції**

	Виробник	<b>Виготовлено:</b> Дата виробництва	<b>Придатно до:</b> Термін придатності	<b>Серія:</b> Номер	
	Виріб медичний для діагностики in vitro		Консультуйтеся з інструкцією із використання		
	Берегти від сонячного світла		Знак відповідності Технічним регламентам		Температурне
	Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів				