

SLE-DAC

ТЕСТ НА СИСТЕМНУЮ КРАСНУЮ ВОЛЧАНКУ (СКВ)

АНТИТЕЛА К ДНК

PT MD 11-38623324-001:2002

СОСТАВ НАБОРА

| Наименование и состав реагентов | Код продукции |
|---|-----------------|
| | 1043S100 |
| SLE-Reagent – взвесь частиц латекса, покрытых синтетическими дезоксирибонуклеопroteинами (DNP), азид натрия 0,95 g/l | 1 ml |
| SLE-Positive Control – положительный синтетический контроль, разведенный буферным раствором, азид натрия 0,95 g/l | 0,100 ml |
| SLE-Negative Control – отрицательный синтетический контроль, разведенный буферным раствором, азид натрия 0,95 g/l | 0,100 ml |
| Diluent 0,9 % – хлорид натрия 9 g/l, азид натрия 0,95 g/l | 5 ml |
| Слайд | 1 шт. |
| Палочки для смешивания | 50 шт. |

Все реагенты готовы к использованию.**ПРИНЦИП МЕТОДА**

Метод основан на реакции преципитации между латексными частицами, сенсibilизированными дезоксирибонуклеопroteинами (DNP), и анти-DNP антителами.

В случае присутствия в образце анти-DNP антител, в результате агглютинации происходит образование комплекса «антиген-антитело», в виде преципитата наблюдаемого макроскопически.

Тест используется в 2-х вариантах: для быстрого выявления гетерофильных антител (качественный вариант) а также для определения титра гетерофильных антител (полуколичественный вариант).

ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Реагенты хранить при 2-8°C и использовать до срока годности, указанного на этикетке.
ЗАМОРАЖИВАНИЕ НЕДОПУСТИМО!

ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сыворотка не липемическая и без гемолиза.
Стабильна при 2-8°C до 48 часов, при минус 20°C – 1 месяц.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Дозатор на 10 µl, ротатор.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Контрольные сыворотки, поставляемые в наборе, протестированы на наличие антител к HIV, HCV и HBs-антигену и признаны отрицательными. Возможные остатки реагентов и образцы сыворотки пациентов подлежат уничтожению в соответствии с утвержденными внутрибольничными правилами.

ХОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Доведите все реагенты до 18-22°C (комнатная температура), аккуратно взболтайте флакон с **SLE-Reagent** до получения однородной суспензии и обезжирьте рабочую поверхность слайда.

Качественный тест (скрининг)**Микровариант:**

1. Поместите 10 µl образца в круг на слайде и рядом в тот же круг 10 µl **SLE-Reagent**.
2. Палочкой тщательно смешайте реагенты, распределите взвесь по всей поверхности круга.
3. Равномерными круговыми движениями вращайте слайд в течение 1 минуты так, чтобы смесь медленно вращалась внутри круга.
4. По истечении 1 минуты произведите оценку результата реакции.

При необходимости объем реагентов и образцов можно пропорционально увеличить до 20-50 µl.

Для стандартизации процедуры вращения рекомендуется использовать ротатор (80-100 об/мин).

Макровариант:

1. Поместите 50 μ l образца в круг на слайде.
 2. Используйте капельницу флакона, поместите рядом в тот же круг 1 каплю **SLE-Reagent**.
- Далее действуйте аналогично микроварианту.

Полуколичественный тест **(определение титра)**

1. Для каждого образца промаркируйте 6 пробирок (или лунок на планшете).
2. Добавьте в каждую пробирку по 0,1 ml **Diluent**.
3. В пробирку №1 добавьте 0,1 ml неразведенного образца.
4. Сделайте серийные двукратные разведения путём переноса из пробирки № 1 0,1 ml - в пробирку № 2 и т.д. для шести пробирок. Степень разведения будет от 1 : 2 до 1 : 64. При необходимости количество разведений можно увеличить.
5. Далее действуйте аналогично **качественному тесту**.

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Положительный результат – наличие агглютинации (преципитат в виде хлопьев), суспензия просветляется в течение 1 минуты.

Отрицательный результат – отсутствие агглютинации (отсутствие преципитата), сохраняется мутная гомогенная суспензия молочного цвета, спустя 1 минуту.

Полуколичественный метод:

Концентрация антител пропорциональна титру разведения и определяется по последнему титру, показавшему положительный результат.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроли должны включаться в каждую серию тестируемых сывороток.

Не адекватные реакции с **SLE-Reagent**, **SLE-Positive Control** и **SLE-Negative Control** указывают на непригодность реагентов.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Считается, что анти - DNP антитела наиболее специфичны для системной красной волчанки (Systemic Lupus Erythematosus, SLE) и отвечают за формирование LE-клеток **in vitro**. Данный феномен встречается у 75-80 % пациентов с диагнозом СКВ.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

У пациентов с системными заболеваниями соединительной ткани, такими как склеродермия, ревматоидный артрит, дерматомиозит, при тести-

ровании данным методом могут определяться положительные результаты.

Определение результатов позднее 1 минуты приводит к ложноположительной оценке Гидралазин, изониазид, прокаинамид, а также противосудорожные препараты могут вызывать SLE-синдром.

ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДА

Проведены исследования с использованием набора на 155 пациентах: у 29 была активная форма СКВ, у 23 СКВ без клинических проявлений, у 8 были заболевания соединительной ткани, остальные 95 состояли в контрольной группе.

SLE-Latex тест сравнивался со стандартным тестом на LE-клетки и флуоресцентным ANA-тестом.

Из 29 сывороток пациентов с активной СКВ, SLE-Latex тест в 82% случаев дал положительный результат, Тест на LE-клетки дал 86% положительных результатов и ANA-тест дал 82 % положительных результатов.

Из 23 сывороток с отсутствием клинических проявлений, SLE-Latex тест дал 19% положительных реакций, тест на LE-клетки дал 19% и ANA-тест - 71% положительных результатов.

У пациентов с заболеваниями соединительной ткани с помощью SLE-Latex теста не было выявлено положительной реакции, тест на LE-клетки дал 17% положительных реакций, ANA-тест дал 50% положительных реакций.

В контрольной группе, которая была составлена из здоровых людей и пациентов с анемией, мононуклеозом и ревматическими поражениями сердца был отмечен 1% положительных реакций при использовании **SLE-Latex теста** и **теста на LE-клетки** в то время как **ANA-тест** дал 6% положительных результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Christian C.L., R. Mendez-Bryan, and D.L. Larson, 1958. Proc.Soc.Exptl.Biol.Med.98, 820-823.
2. Friou, G.J., S.C. Finch, and K.D. Detre, 1958. J.Immunol.80, 324-329.
3. Hargraves, m. M., H. Richmond, and R. Morton, 1948. Proc. Mayo Clin. 23 25-28.
4. Holman, H.R, and H.G. Kunkel, 1957. Science 126, 163.
5. Miescher, P.A., and R.Strassel, 1957.Vox.Sang, 2 283-287.
6. Miescher, P.A., Rothfield, and A.Miescher, 1966. Lupus Erythematosus, E.L. Dubois, Ed., Blakiston Co, N.Y.
6. Rothfield, N.F., J.J.Phythyon, C.McEwen, and P. Miescher, 1961. Arthritis Rheum. 4, 223-229.
7. Bennett, R.M., B.Langer, and E. Molina, 1976. Am.J.Clin.Path. 66 743-745.

9. Chapman, J.C., 1976. Am.J.Med.Tech.42 154-157.

10. Tuffanelli, D.L., 1972. arch Derm., 106 553-566.