

IMTEC-Anti –C1q- Antibodies

ELISA pro kvantitativní stanovení Anti-C1q protilátek (IgG)

Balení [REF] ITC59033

96 Testů Kompletní souprava [IVD]

Přečtěte si prosím pečlivě před testováním tento návod.

Upozornění při postupu:

Nepoužívejte reagentie po datu expirace.

[DIL] DB11, **[WASH][20x]** WB03, **[SUB]** TMB, ELISA a **[STOP]** STOP ELISA jsou zaměnitelné mezi jednotlivými šaržemi a různými reagenčními soupravami, pokud obsahují stejné označení reagentií.

Všechny ostatní reagentie jsou specifické pro jednotlivé soupravy a šarže a nesmí být zaměňovány s ostatními šaržemi a soupravami. Skladování reagentií při 2 – 8°C.

Klinický význam

IMTEC-Anti-C1q-Antibodies je enzymová imunoanalýza (ELISA) pro kvantitativní měření autoprotiátek třídy IgG proti C1q v lidském séru. Test je určen pro diagnostické použití in vitro pouze jako pomůcka při diagnostice systémového lupus erythematoses a lupus nefritis.

Anti-C1q protilátky typu IgG jsou přítomny u 17-46 % všech pacientů se systémovým lupus erythematoses (SLE) a zejména u velké části pacientů s lupoidní nefritidou. Také bylo zjištěno, že zvýšená koncentrace autoprotiátek proti C1q má senzitivitu 71% a specifitu 92%, pozitivní prediktivní hodnotu 50% a negativní prediktivní hodnotu 97% pro vývoj postižení ledvin. Proto je u pacientů se SLE detekce antiC1q autoprotiátek stejně jako detekce autoprotiátek proti dsDNA důležitým kritériem pro určení potenciálního ledvinového postižení.

Princip metody

Test je založen na vazbě C1q na povrchu mikrotitračních destiček a následném navázání anti-C1q protilátek ze séra pacienta. Navázané protilátky jsou detekovány peroxidázou značenými sekundárními protilátkami proti lidskému IgG. Po přidání roztoku substrátu se objeví zbarvení, jehož intenzita je úměrná koncentraci a/nebo aviditě detekovaných protilátek. Po přidání stop činidla se barva změní z modré na žlutou.

Reagentie

[MTP]	12	mikrotitračních stripů (v 1 stripovém rámečku) 8-jamkové odlamovací stripy, připravený k použití s navázaným C1q
[CAL]	1-5 5x 1,5 ml	kalibrátory IgG (bílý uzávěr) lidské sérum, barvené podle koncentrace připravené k použití

		anti-C1q level: 12.5 U/ml (1) , 25 U/ml (2) , 50 U/ml (3) , 100 U/ml (4) , 200 U/ml (5)	
[NC]	1 ml	negativní kontrolní sérum (zelený uzávěr) lidské, připraveno k použití	
[PC]	1 ml	pozitivní kontrolní sérum (červený uzávěr) lidské, připravené k použití	
[WASH][20x] WBO3	50 ml	Koncentrace jsou uvedeny na nálepce promývací pufr (černý uzávěr) koncentrát (20x) pro 1l	
[DIL] DB11	100 ml	TRIS pufr ředící pufr (modrý uzávěr) připravený k použití	(pH 6,9 ± 0.2)
[CON]	15 ml	Fosfátový pufr roztoku konjugátu (bílý uzávěr)	(pH 6,8 ± 0.2)
[SUB] TMB ELISA	15 ml	anti-human-IgG HRP konjugát, připravený k použití TMB roztok (černý uzávěr) připraven k použití	(pH 3.7 ± 0.2)
		Bezbarvý až namodralý 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine	1.2 mmol/l
		peroxid vodíku	3 mmol/l
[STOP] STOP ELISA	15 ml	stop činidlo (červený uzávěr) kyselina sírová, připravená k použití	0.5 mol/l
	1 ks	adhesní folie	

Bezpečnostní upozornění

Se všemi patientskými vzorky a kontrolami musí být zacházeno jako s potenciálně infekčními. Kontroly byly na dárcovské úrovni testovány na HCV a HIV-1/2 protilátky a HBsAg a shledány negativními. Noste ochranný oděv a rukavice v souladu se zásadami správné laboratorní praxe. Všechny materiály kontaminované patientskými vzorky nebo kontrolami musí být deaktivovány schválenými procedurami (autoklávování nebo chemické ošetření) v souladu s doporučenými normami.

Stabilita

Reagencie jsou stabilní do data expirace, uvedeného na jednotlivých nálepkách, jsou-li skladovány při 2...8°C.

Příprava reagensů

Nechte reagenční kit a všechny komponenty dosáhnout před upotřebením pokojové teploty. Použité lahvičky musí být pečlivě uzavřeny a skladovány při 2 - 8°C. Skladujte je chraňte před světlem [SUB]. Nepoužívejte polystyrénové nádoby pro nakládání s [CON].

Aby se zabránilo potenciální mikrobiální a / nebo chemické kontaminaci, nepoužitá činidla by nikdy neměla být přenesena do původních lahviček.

Promývací roztok [WASH]

Jakékoliv krystalky solí uvnitř lahvičky musí být před použitím rozpuštěny. Naředte 1 díl [WASH][20x] 19 díly destilované vody. Promývací roztok [WASH] je stabilní 6 týdnů, je-li skladován při 2 - 8°C.

Vzorky

Pacientská séra.

Používejte čerstvě odebrané vzorky nebo vzorky zamražené na – 20°C. Vytemperujte vzorky na pokojovou teplotu (30 min.). Nařed'te sérum 1:101 [DIL] (přidejte k 10 µl séra 1ml [DIL]).

Postup

- **Pipetujte 100 µl** ředěného vzorku, [CAL], [PC] a [NC] do [MTP], pro blank použijte [DIL] místo ředěného vzorku, [MTP] pevně uzavřete adhezní folií.
- Inkubujte **1 hodinu** při pokojové teplotě.
- Vylijte roztok z [MTP]. Promyjte [MTP] použitím 300 µl [WASH] na jamku. Opakujte postup 3x.
- **Pipetujte 100 µl** [CON] a pevně přikryjte adhezní folií [MTP].
- Inkubujte **30 min** při pokojové teplotě.
- Vylijte roztok z [MTP]. Promyjte [MTP] použitím 300 µl [WASH] na jamku. Opakujte postup 3x.
- Vylijte promývací roztok [WASH] a vyklepněte jeho rezidua do savého papíru (buničiny).
- **Pipetujte 100 µl** [SUB] a inkubujte **10 min**. Při pokojové teplotě nad 25°C m ůže být inkubace substrátu zkrácena, ale nikdy nesmí být kratší než 5 min.
- Přidejte 100µl [STOP] na jamku.
- **Hodnoty absorbance odečtete při 450 nm** během následujících 10 minut. po zastavení. Doporučuje se Bi-chromatické měření s referenční vlnovou délkou při 620 - 690 nm.

Automatizace

Soupravu IMTEC-Anti-C1q-Antibodies ELISA lze použít s vhodným automatickým analyzátozem. Aplikace musí být validovány dle diagnostického užití.

Platnost testu

Výsledky testu jsou platné, jestliže, jsou splněna následující kritéria:

- [PC] je v uvedeném rozsahu (viz nálepka).
- [NC] je nižší než cut-off hodnota testu.
- [CAL][5] nesmí spadnout pod hodnotu absorbance 0.6
- Absorbance [CAL][1]-[5] musí stoupat.

Abychom zvýšili přesnost výsledků testu, doporučujeme použít [CAL][1]-[5], [PC][NC] a pacientské vzorky v duplikátech.

Interpretace výsledů

Vyneste naměřené absorbance proti U/ ml [CAL][1]-[5] v semilogaritmickém grafu. Interpolací vynesných naměřných bodů získáme kalibrační křivku, z níž je možno stanovit koncentraci antiC1q protilátek v pacientském vzorku. Výsledky nad 20 U/ml jsou pozitivní.

Omezení

Pozitivní výsledek musí být použit ve spojení s klinickým hodnocením a diagnostickými postupy. Hodnoty získané tímto testem jsou určeny pouze jako pomůcka pro diagnostiku. Zvýšené anti-C1q protilátky se mohou objevit u jedinců bez důkazů klinického onemocnění. Pokud vzorek pacienta obsahuje zvýšené hladiny imunokomplexů nebo jiných imunoglobulinových agregátů, nelze vyloučit falešně pozitivní výsledky nespecifickou vazbou. Výkonové charakteristiky tohoto testu nebyly stanoveny pro vzorky plazmy.

Charakteristiky výkonu

Typické údaje o výkonu lze nalézt ve zprávě o ověření, která je přístupná na adrese:

www.human.de/data/gb/vr/el-59033.pdf nebo

www.human-de.com/data/gb/vr/el-59033.pdf pokud údaje o výkonu nejsou dostupné přes internet, lze je získat zdarma od místního distributora.

Bezpečnostní pokyny

[STOP] Varování

Standardní věty o nebezpečnosti

H315 Dráždí kůži

H319 Způsobuje vážné podráždění očí

[SUB] Nebezpečí

Standardní věty o nebezpečnosti

H360D Může poškodit nenarozené dítě.

Pokyny pro bezpečné zacházení [CAL] [NC] [PC] [WASH] [20x] [DIL] [CON] [SUB] [STOP]

P234 Uchovávejte pouze v původním obalu.

P260 Nevdechujte prach / dým / plyn / mlhu / páry / aerosoly.

P262 Zabraňte vniknutí do očí, na kůži nebo na oděv.

P281 Podle potřeby používejte osobní ochranné prostředky.

P303 + P361 + P353 PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo vlasy): Okamžitě svlékněte kontaminovaný oděv.

Opláchněte pokožku vodou / sprchou.

P305 + P351 + P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li k dispozici a je to snadné. Pokračujte ve vyplachování.

P337 + P313 Pokud přetrvává podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření.

P401 Skladujte v souladu s místními / regionálními / národními / mezinárodními předpisy.

P501 Obsah / obal zlikvidujte v souladu s místními / regionálními / národními / mezinárodními předpisy.

Reference:

1. Mannik M., Wener M.H., Arthritis Rheum. 40, 1504–1511 (1997)
2. Siegert C.E.H. et al., Clin. Exp. Immunol. 116, 4-8 (1999)
3. Marto N. et al., Ann. Rheum. Dis. 64, 444-448 (2005)

EL-59033

INF ITC59033 GB

Vydáno: 08-2018-13M