

IMTEC-ENA Screen (cut-off)

Testování ENA

ELISA pro kvantitativní stanovení anti-ENA protilátek (IgG)

Velikost balení

[REF]

ITC60005

96 testů

Kompletní souprava

[IVD]

Před testováním si prosím pečlivě přečtěte instrukce.

Procedurální připomínky:

Nepoužívejte reagentie po datu jejich spotřeby.

Roztoky [DIL] DB14, [WASH][20×] WB03, [SUB] TMB ELISA a [STOP] STOP ELISA mohou být používány v rámci jiných testovacích souprav nebo šarží, pokud reagentie v nich sdílejí stejné označení.

Všechny ostatní reagentie jsou specifické pro jednotlivé šarže souprav a nesmí být použity v jiných soupravách ani v jiných šaržích stejného typu soupravy.

Reagentie skladujte při 2–8 °C.

Použití

IMTEC-ENA Screen (cut-off) je nepřímý enzymatický imunologický test s antigenem zachyceným na pevné fázi, který slouží ke kvantitativnímu stanovení IgG autoprotiátek proti extrahovatelným jaderným antigenům v lidském séru či plazmě. Test je určen pouze pro *in vitro* diagnostiku a slouží k diagnóze chorob pojivových tkání.

Protilátky proti extrahovatelným jaderným antigenům jsou typické pro některá revmatická onemocnění a mohou přispět k diagnóze a prognóze těchto chorob: systémový lupus erythematoses (SLE), Sjögrenův syndrom, smíšené onemocnění pojiva (Sharpův syndrom, MCTD), sklerodermie, poly- a dermatomyozitidy a CREST syndrom.

IMTEC-ENA Screen (cut-off) umožňuje současnou detekci specifických autoprotiátek proti SS-A/Ro, SS-B/La, SmD1, U1-snRNP, Scl70, Jo1, histonům a centromernímu B proteinu (CENP-B). Vzorky, které poskytnou negativní výsledek v IMTEC-ENA Screen (cut-off) mohou být považovány za negativní na přítomnost autoprotiátek o výše zmíněných specifitách. Pozitivní vzorky mohou být dále rozlišeny pomocí IMTEC-ENA Profile ELISA nebo IMTEC-ANA-LIA.

SS-A/Ro	Antigeny: SS-A 60, SS-A 52 Sjögrenův syndrom (~90 %), SLE (50 %)
SS-B/La	Antigen: SS-B Sjögrenův syndrom (85 %)
SmD1	Antigen: SmD1 peptid SLE (70 %)
U1-snRNP	Antigeny: RNP-A, RNP-C, RNP 68 kD smíšené onemocnění pojiva (MCTD) (100 %)
Scl70	Antigen: Topoisoméráza I Systémová sklerodermie (70 %)
Jo1	Antigen: Histidyl-tRNA-syntetáza Polymyozitida/Dermatomyozitida (25–30 %)
Histon	Antigeny: Histony H2A, H2B, H3, H4 SLE způsobený léčivými (DILE) (95 %), SLE (20–50 %)
CENP-B	Antigen: CENP-B (80 kD) CREST syndrom (kalcinóza, Raynovova nemoc, poruchy motility jícnu, sklerodaktylie a teleangiectázie)

Princip

Test je založen na kovalentní imobilizaci směsi purifikovaných ENA na chemicky aktivované mikrotitrační destičce a následném navázání anti-ENA protilátek z pacientova séra.

Navázané protilátky jsou pak detekovány pomocí konjugátu peroxidázy (HRP) se sekundární protilátkou proti lidskému IgG. Po přidání roztoku substrátu se objeví zbarvení, jehož intenzita je úměrná koncentracím a/nebo aviditám detekovaných protilátek. Po přidání [STOP] roztoku se barva přemění z modré na žlutou.



Human

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH

Max-Planck-Ring 21 · 65205 Wiesbaden · Germany

Telefon +49 6122-9988-0 · Telefax +49 6122-9988-100 · e-Mail human@human.de

Reagencie a obsah soupravy

[MTP]	12	Mikrotitrační proužky (Microtiter Strips) (ve stojánku) 8jamkové separátní proužky připravené k použití pokryté navázanou ENA	
[CC]	2 ml	Cut-off kontrolní lidské sérum (Cut-off control) (bílé víčko), připravené k použití	
[NC]	2 ml	Negativní kontrolní lidské sérum (Negative Control Serum) (zelené víčko), připravené k použití	
[PC]	2 ml	Pozitivní kontrolní lidské sérum (Positive Control Serum) (červené víčko), připravené k použití. Koncentrace jsou uvedeny na štítcích.	
[WASH] [20×] WB03	50 ml	Promývací pufr (Washing Buffer) (černé víčko) Koncentrát (20×) na 1 l TRIS pufr	pH 6,9 ±0,2
[DIL] DB14	100 ml	Ředicí roztok (Dilution Buffer) (modré víčko), připraven k použití fosfátový pufr	pH 7,2 ±0,2
[CON]	15 ml	Roztok konjugátu anti IgG-HRP (Conjugate Solution) (bílé víčko), připraven k použití	
[SUB] TMB ELISA	15 ml	TMB roztok (TMB Solution) (černé víčko), připraven k použití bezbarvý až namodralý 3,3', 5,5'-tetramethylbenzidin peroxid vodíku	pH 3,7 ±0,2 1,2 mmol/l 3 mmol/l
[STOP] STOP ELISA	15 ml	Zastavovací roztok (Stop Solution) (červené víčko) Kyselina sírová, připravená k použití	0,5 mol/l
	1	Adhesivní proužek (Adhesive Strip)	

Bezpečnostní pokyny

Nepolykejte reagencie. Předcházejte kontaktu s očima, kůží a sliznicemi. Se všemi vzorky, jak od pacientů, tak i s kontrolami, se musí zacházet jako s potenciálně infekčním materiálem. Kontroly měly negativní výsledky testů na přítomnost HCV a HIV 1/2 protilátek a HBsAg. Noste laboratorní oblečení a jednorázové rukavice v souladu se správnou laboratorní praxí.

Veškerý materiál kontaminovaný vzorky pacientů nebo kontrolami musí být inaktivován schválenými standardními postupy (autoklávováním nebo chemicky) podle příslušných předpisů.

Stabilita

Všechny reagencie jsou stabilní do data spotřeby vyznačeného na štítcích, pokud jsou skladovány při 2–8 °C.

Příprava reagiencí

Testovací souprava a všechny její součásti se před použitím musí nechat zahřát na pokojovou teplotu! Použité lahvičky se musí pečlivě uzavřít a skladovat při 2–8 °C. Chraňte roztok [SUB] před světlem.

Nepoužívejte polystyrenové nádoby při manipulaci s roztokem [CON].

Nepoužité reagencie by se nikdy neměly vracet do původních vialek, aby se zabránilo mikrobiální a/nebo chemické kontaminaci.

Promývací roztok [WASH]

Případné krystalky soli musí být před použitím roztoku zcela rozpuštěny. Rozředte 1 díl [WASH][20×] pomocí 19 dílů destilované vody. [WASH] je stabilní po dobu 6 týdnů, je-li skladován při 2–8 °C.

Vzorky

Sérum nebo plazma pacientů

Používejte pouze čerstvě získané vzorky nebo vzorky, které byly zmrazené na –20 °C. **Zmrazit a rozmrazit vzorky lze pouze jednou.** Nepoužívejte vzorky séra, které bylo inaktivováno zahřátím na 56 °C.



Human

Sérum rozřeďte 1 : 101 pomocí [DIL] (přidejte 10 µl séra do 1 ml [DIL])

Postup

- **Napipetujte 100 µl** naředěného vzorku, [CC], [PC] a [NC] do [MTP]. Jako blank použijte samotný [DIL] místo naředěného vzorku. Uzávěte [MTP] pomocí adhesivních proužků.
- Inkubovat **1 h** při pokojové teplotě.
- **Odstraňte roztoky** z [MTP]. **Promyjte** [MTP] 3× pomocí 300 µl [WASH] na jamku.
- **Odstraňte** [WASH] a vyklepněte zbytky roztoku na savý papír nebo plátno.
- **Napipetujte 100 µl** [CON] a uzavřete [MTP] pomocí adhesivních proužků.
- Inkubujte **30 min** při pokojové teplotě.
- **Odstraňte roztoky** z [MTP]. Promyjte [MTP] 3× pomocí 300 µl [WASH] na jamku.
- **Odstraňte** [WASH] a vyklepněte zbytky roztoku na savý papír nebo plátno.
- **Napipetujte 100 µl** [SUB] a nechte inkubovat **10 minut**. Pokud pokojová teplota přesahuje 25 °C, lze inkubaci zkrátit, ale nikdy ne na méně než 5 minut.
- **Přidejte 100 µl** [STOP] do každé jamky.
- **Změřte hodnoty absorbance při 450 nm** během 10 minut po přidání [STOP] roztoku. Doporučuje se bichromatické měření s referenční vlnovou délkou 620–690 nm.

Automatizace

IMTEC-ENA Screen (cut-off) ELISA lze provést na vhodném automatickém ELISA analyzáru. Před použitím pro diagnostiku musí být aplikace nejprve validována.

Validace testu

Výsledky testu jsou validní za podmínky, že budou dodržena následující kritéria:

- [PC] > [CC]
- [PC] hodnota absorbance není nižší než 0,6.
- [NC] < [CC]
- [PC] / [CC] je v rozmezí 1,2 – 5,0.

Pro zlepšení přesnosti výsledku testu doporučujeme provést měření [CC] [PC], [NC] a vzorků pacientů v duplikátech.

Interpretace výsledků

Interpretace výsledků je provedena porovnáním absorbcí [CC] a vzorků:

- Absorbance > 1,1 * [CC] ... vzorky jsou považovány za pozitivní
- Absorbance < 0,9 * [CC] ... vzorky jsou považovány za negativní
- Absorbance ≥ 0,9 * [CC] a zároveň Absorbance ≤ 1,1 * [CC] ... vzorky jsou neprůkazné

Pokud jsou vzorky pozitivní, měly by být testovány na specifické anti-ENA protilátky pomocí IMTEC-ENA Profile ([REF] ITC60033 detekující protilátky proti SS-A/Ro, SS-B/La, SmD1, U1-snRNP, histonům, CENP-B, Scl70 a Jo1).

Omezení

Pozitivní výsledek musí být použit ve spojení s klinickým hodnocením a diagnostickou procedurou. Výsledky mohou sloužit pouze jako pomoc při diagnóze.

Zvýšené hodnoty protilátek proti nukleárním antigenům se mohou objevit i u zdravých jedinců.

Jestliže pacientovo sérum obsahuje zvýšené hladiny imunitních komplexů nebo jiných imunoglobulinových agregátů, nelze vyloučit falešně pozitivní výsledek vzniklý jejich nespecifickými interakcemi.

Funkční charakteristiky

Ukázky typických dat lze nalézt v ověřovací zprávě (Verification Report) dostupné na stránkách:

www.human.de/data/gb/vr/el-60005.pdf nebo na

www.human-de.com/data/gb/vr/el-60005.pdf.

V případě, že data nejsou dostupná po internetu, lze je zdarma obdržet od vašeho lokálního distributora.

Bezpečnostní pokyny

Roztok [STOP] – **Varování!**

• **Standardní věty o nebezpečnosti**

H315 Dráždí kůži.

H319 Způsobuje vážné podráždění očí.

Pokyny pro bezpečné zacházení



Human

Human Gesellschaft für Biochemia und Diagnostica mbH

Max-Planck-Ring 21 · 65205 Wiesbaden · Germany

Telefon +49 6122-9988-0 · Telefax +49 6122-9988-100 · e-Mail human@human.de

P280 Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít.

P305+P351+P338 Při zasažení očí: Několik minut opatrně oplachujte vodou. Vyměte kontaktní čočky, pokud jsou nasazeny a je možné je vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

P321 Odborné ošetření (viz štítek).

P362 Kontaminovaný oděv svlékněte.

P332+P313 Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření.

Reference

1. Damoiseaux J. G., Tervaert J. W., *Autoimmun Rev.* **5**, 10–17 (2006)

2. Egner W., *J. Clin. Pathol.* **53**, 424–432 (2000)

3. Conrad K. et al., *Autoantibodies in Systemic Autoimmune Diseases – A Diagnostic Reference*; Pabst Science Publishers, Lengerich, Berlin, Riga, Rom, Viernheim, Wien, Zagreb, 2002

EL-60005

INF ITC60005 GB

06-2015-04M



Human