

IMTEC-ANA-LIA XL

Imunologický test pro detekci antinukleárních protilátek metodou LIA

(dsDNA, Nukleosomy, Histony, SmD1, PCNA, PO, SS-A/Ro 60, SS-A/Ro 52, SS-B/La, CENP-B, Scl70, U1-snRNP, AMA M2, Jo-1, PM-Scl, Mi-2, Ku a DFS70)

Velikost balení

[REF] ITC92007 24 testů Kompletní testovací souprava

[IVD]

Před testováním si pozorně přečtěte instrukce.

Zamýšlený účel

IMTEC-ANA-LIA XL je IVD test pro kvalitativní stanovení 18 protilátek třídy IgG proti dsDNA, Nukleosomům, Histonům, SmD1, PCNA, ribosomálnímu PO (RPP), SS-A/Ro 60, SS-A/Ro 52, SS-B/La, CENP-B, Scl70, U1-snRNP, AMA M2, Jo-1, PM-Scl, Mi-2, Ku a DFS70 v lidském séru nebo plazmě. Test je určen pro profesionální použití jako pomůcka pro diagnostiku a klasifikaci autoimunitních systémových revmatických onemocnění (SARD). Je vhodný pro manuální nebo automatizované aplikace.

Klinický význam

Antinukleární protilátky (ANA) jsou autoprotilátky s různou specificitou namířené proti antigenům buněčného jádra. Detekce protilátek proti ANA a ENA (extrahovatelné jaderné antigeny) a DFS70 se používá jako pomůcka pro diagnostiku autoimunitních systémových revmatických onemocnění (SARD). ANA protilátky jsou spojeny s SLE a revmatickými onemocněními. Antimitochondriální protilátky (AMA) proti antigenu M2 jsou specifické pro PBC a lze je detekovat u 90 % pacientů s PBC. Protilátky Anti-AMA M2 se také často objevují u kolagenózy ještě před klinickými příznaky. Jo1, PM-Scl, Mi-2 a Ku jsou diagnostické markery poly- a dermatomyositidy, stejně jako autoimunitních onemocnění a overlap syndromů spojených s myositidou.

Princip

Test je založen na principu linkového imunologického testu (LIA). Nukleární a asociované cytosolické antigeny jsou aplikovány jako linky

na nitrocelulózové membráně:

antigeny	identita
dsDNA	nativní
Nukleosomy	nativní
Histony	nativní
SmD1	peptidická
PCNA	rekombinantní
PO (RPP)	rekombinantní
SS-A/Ro 60	nativní
SS-A/Ro 52	rekombinantní
SS-B/La	rekombinantní
CENP-B	rekombinantní
Scl70	rekombinantní
U1-snRNP	rekombinantní
AMA-M2	nativní
Jo-1	rekombinantní
PM-Scl	rekombinantní
Mi-2	rekombinantní
Ku	rekombinantní
DFS70	rekombinantní

Nitrocelulózová membrána je blokována pro zabránění nespecifickým reakcím. V průběhu inkubace proužků s nařazenými vzorky od pacientů se protilátky obsažené ve vzorcích naváží na antigeny na proužku. Pro detekci navázaných protilátek se používají anti-human IgG protilátky označené křenovou peroxidázou (HRP). Po přidání substrátu a ukončovacího roztoku se přítomnost (auto) protilátek proti příslušným antigenům prokáže viditelnými hnědými linkami.

Obsah soupravy

[STRIP]	24	Testovací proužky (oranžová barva) potažené antigenem (viz tabulka), připraveno k použití
[DIL&LIA]	30 ml	Ředící pufr (modrý uzávěr), připraveno k použití
[WASH][20x] WB03	50 ml	Promývací pufr (černý uzávěr) koncentrát (20x) pro 1 l pufru
[CON]	30 ml	Konjugát (bílý uzávěr) konjugát anti-human-IgG, připraveno k použití
[SUB&LIA]	30 ml	Roztok substrátu (černý uzávěr), připraveno k použití, bezbarvý až namodralý
[STOP][LIA]	30 ml	Ukončovací roztok (červený uzávěr) kyselina sírová, připraveno k použití
	2 ks	Inkubační miska
	Vše 1 ks	Výsledkový list, pinzeta, lepící list, průhledná šablona pro vyhodnocení

Další požadované materiály, které nejsou součástí soupravy

1 ks	Pipeta na 1 ml a 10 µl
1 ks	Třepačka

Stálost

Pokud jsou uchovávány při 2 ... 8 ° C, jsou neotevřené lahvičky stabilní až do data expirace.

[WASH] (po rekonstituci) a otevřené reagentie jsou stabilní po dobu 6 týdnů při teplotě 2 ... 8 ° C.

Skladujte [SUB&LIA] mimo sluneční světlo.

Opatření š

[DIL&LIA] DB01, [WASH][20x] WB03, [SUB&LIA] a [STOP][LIA] jsou zaměnitelné v rámci šarží a testovacích souprav LIA se stejným označením reagentie.

Všechny ostatní reagentie jsou specifické pro jednotlivé testovací soupravy a nesmí být zaměňovány s reagentiemi z jiných šarží a testovacích souprav.

K manipulaci s [CON] nepoužívejte polystyrenové nádoby.

Případné krystalky soli [WASH][20x] v lahvi musí být před použitím rozpuštěny.

Nedovolte, aby proužky [STRIP] během inkubace vyschly. Nedotýkejte se proužků [STRIP] prsty, použijte pinzetu.

Po inkubaci [STRIP] zředěné vzorky zcela odstraňte, abyste zabránili křížové kontaminaci.

Vzorky, kontroly

Sérum nebo plazma s antikoagulantem EDTA nebo citrátem sodným.

Nepoužívejte vysoce lipemické, hemolyzované nebo ikerické vzorky.

Neředěné vzorky mohou být skladovány po dobu 5 dnů při 2 ... 8 ° C nebo po dobu jednoho roku při -20 ° C.

Vzorky mohou být zmrazeny a rozmrazeny pouze jednou. Rozmrazený vzorek by měl být opatrně homogenizován. Odstraňte částice odstředěním nebo filtrací.

Příprava reagentie

Před použitím zahřejte všechny reagentie na **pokojoovou teplotu** (15...25°C).

Nepoužité reagentie by měly být vždy skladovány při teplotě 2 ... 8°C.

Roztok promývacího pufru [WASH]

Ředte 1 díl [WASH][20x] 19 díly destilované vody.

Postup

Postup promývání

Postup promývání je zásadní. Nedostatečné promytí způsobí nedostatečnou přesnost nebo falešně vysokou intenzitu pruhů.

W1: Zcela odstraňte tekutiny.

W2: Přidejte [WASH] a inkubujte po dobu 5 minut za mírného míchání.

W3: Po promytí odstraňte zbytky tekutiny.

Schéma pipetování

Přesně dodržujte popsany postup. Věnujte zvláštní pozornost postupu promývání!	
Š Reagencie a vzorky by před použitím měly mít pokojovou teplotu. Š Při všech inkubačních krocích použijte třepačku.	
Příprava vzorku: Naředte vzorek 1:101 s [DILxLIA] DB01 (10 µl sérum + 1 ml [DILxLIA]) Na každou jamku je třeba 1 ml.	
Krok 1	Jamka [ml]
Vložte [STRIP] do inkubační misky barevným značením nahoru	---
[WASH] pro navlhčení membrány	1
Inkubujte 1 min při pokojové teplotě	
Odstraňte [WASH]	
Krok 2	
Zředěné vzorky	1
Inkubujte 30 min při pokojové teplotě	
3x promyjte v souladu s pokyny (viz W1 - W3)	
[WASH]	1
Krok 3	
[CON]	1
Inkubujte 30 min při pokojové teplotě	
3x promyjte v souladu s pokyny (viz W1 - W3)	
[WASH]	1
Krok 4	
[SUBxLIA]	1
Inkubujte 10 min při pokojové teplotě	
Odstraňte [SUBxLIA]	
Krok 5	
Přidejte destilovanou vodu	1
Inkubujte 1 min při pokojové teplotě	
Odstraňte destilovanou vodu	
[STOP[LIA]	1
Inkubujte 5 min při pokojové teplotě	
Odstraňte [STOP[LIA]	
Důkladně vysušte [STRIP]	

Automatizace

IMTEC-ANA-LIA XL může být zpracován vhodným Blot analyzátozem. Aplikace musí být před užitím v diagnóze validována. Pro automatické vyhodnocení LIA proužků použijte HumaScan FA [REF] ITC81000.

Pro plně automatické zpracování a vyhodnocení použijte HumaBlot 44^{FA} [REF] ITC80000.

Validace testu

Výsledky testu jsou platné, pokud jsou pro všechny [STRIP] splněny následující kritéria:

[STRIP]:

- Funkční kontrola je viditelná.
- Cut-off kontrola je viditelná.
- Intenzita funkční kontroly je větší než intenzita cut-off kontroly.

Interpretace výsledků

Připevňte [STRIP] na výsledkový list a zarovnejte referenční linku na [STRIP] s referenční linkou na výsledkovém listě.

Vyrovnejte tečkovanou referenční linku na šabloně pro vyhodnocení s referenční linkou na [STRIP].

Interpretace výsledků testu se provádí výhradně na základě cut-off kontroly příslušného [STRIP]:

Výsledek testu je **negativní**, když žádný pruh není vidět, nebo pokud je pruh viditelný ovšem s menší intenzitou než cut-off kontrola.

Test je **nerozhodnutelný**, pokud se intenzita pruhu a cut-off kontroly významně neliší.

Výsledek testu je **pozitivní**, pokud je pruh viditelný s významně vyšší intenzitou než cut-off kontrola.

Zaznamenejte příslušné výsledky testu na výsledkovém listě.

Omezení

Pozitivní výsledek musí být v souladu s klinickým vyšetřením a diagnostickými postupy. Hodnoty získané tímto testem by měly sloužit pouze jako pomůcka pro diagnostiku.

Intenzita barvy v pruhu nemusí přímo odpovídat množství protilátek stanovených jinou referenční metodou. Vzorky od zjevně normálních dárců krve mohou obsahovat autoprotilátky.

Pokud patientský vzorek obsahuje zvýšené hladiny imunitních komplexů či jiných imuno-globulinových agregátů, není možné vyloučit falešné pozitivní výsledky díky nespecifickým vazbám.

Výkonnostní údaje

Typické výkonnostní údaje naleznete ve verifikačním protokolu, který je k dispozici na

www.human.de/data/gb/vr/la-92007.pdf or

www.human-de.com/data/gb/vr/la-92007.pdf

Pokud výkonnostní údaje nejsou přístupné přes internet, lze je zdarma získat od místního distributora.

Bezpečnostní poznámky

[STOP[LIA] Varování

H315 Dráždí kůži.

H319 Způsobuje vážné podráždění očí.

[STRIP] [DILxLIA] [WASH][20x] [CON] [SUBxLIA] [STOP[LIA]

P234 Uchovávejte pouze v původním obalu.

P281 Používejte požadované osobní ochranné prostředky.

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

P501 Odstraňte obsah/obal v souladu s místními/regionálními/národními/mezinárodními předpisy.

[DILxLIA] [WASH][20x] [CON] [SUBxLIA] [STOP[LIA]

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

P262 Zabraňte styku s očima, kůží nebo oděvem.

P303+P361+P353 PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte.

P305+P351+P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně oplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

P337+P313 Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

Všechny dárcovské jednotky lidského původu byly testovány na protilátky HBsAg, HIV a HCV a pomocí schválených metod byly shledány negativními. Materiál by však měl být stále považován za potenciálně infekční.

Literatura

1. Conrad K. *et al.*, Autoantibodies in Systemic Autoimmune Diseases – A Diagnostic: Vol. 2 third edition, 2015; Pabst Science Publishers, Lengerich, Berlin, Riga, Rom, Viernheim, Wien, Zagreb
2. Conrad K. *et al.*, The clinical relevance of DFS70 autoantibodies, Clin Rev. Allerg Immunol, 2017
3. Watanabe A. *et al.*, Anti DFS70 antibodies in 597 healthy hospital workers, Arthritis Rheumatism, 2004
4. Mahler M. *et al.*, Anti-DFS70/LEDGF Antibodies Are More Prevalent in Healthy Individuals Compared to Patients with Systemic Autoimmune Rheumatic Diseases, J. Rheumatology, 2014

LA-92007

INF ITC92007 GB

05-2020-001

IMTEC

Human

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH

Max-Planck-Ring 21 · 65205 Wiesbaden · Německo

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