



KÓD 44785 96 Testů
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C
Reagencie pro stanovení anti-nukleárních protilátek (ANA) Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.

PRINCIP METODY

Specifické anti-nukleární (ANA) protilátky ze vzorku se váží na antigen navázaný na povrchu mikrotitračních destiček. V průběhu druhé inkubace se váže konjugát (imunoglobulin proti lidskému IgG značený křenovou peroxidázou) s protilátkami navázanými na povrchu jamky. Nakonec se přidává 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB) s H₂O₂ do každé jamky jako enzymový substrát. Vzniklá enzymatická barevná reakce je zastavena kyselinou. Žluté zabarvení reakce se měří při 450 nm a intenzita absorpce je úměrná koncentraci protilátek ve vzorku¹.

OBSAH A SLOŽENÍ

- A. Koncentrovaný promývací roztok.** 50 mL. Koncentrovaný fosfátový pufr, azid sodný 15 mmol/l.
- B. Ředící roztok.** 100 mL. Tris pufr, azid sodný 15 mmol/l.
- C+. Pozitivní kontrola.** 1,5 mL. Připravena k použití. Lidské sérum s ANA protilátkami, azid sodný 15 mmol/l.
- C-. Negativní kontrola.** 1,5 mL. Připravena k použití. Lidské sérum bez ANA protilátek, azid sodný 15 mmol/l.
- CO Cut-off standard.** 1,5 mL. Připraven k použití. Lidské sérum s ANA protilátkami, azid sodný 15 mmol/l.
- D. Konjugát.** 15 mL. Křenovou peroxidázou značené imunoglobuliny proti lidskému IgG.
- E. Substrát.** 15 mL. 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB).
- F. Zastavovací roztok. 15 mL.** Kyselina fosforečná 4,5 %.
- NEBEZPEČÍ:** H314: Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. P303+P361+P353: PŘI STYKU S KÚŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte.
- M. Mikrotitrační destičky:** 12 modulů po 8 rozlamovatelných jamek s navázanou směsí purifikovaných antigenů: SSA-52, SSA-60, SSB(La), Sm/RNP, RNP-70, RNP-A, RNP-C, SmBB', SmD, SmE, SmF, SmG, Scl70, Jo-1, dsDNA, ssDNA, polynukleozomy, mononukleozomy, histony H1, histony H2A, histony H2B, histony H3 a H4, PMScl-100 a centromery B.

Další varování a bezpečnostní opatření naleznete v bezpečnostním listu produktu (SDS).

Lidská séra použitá při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a shledána negativní na přítomnost protilátek anti-HIV a anti-HCV, a stejně tak na HBs antigen. Nicméně zacházejte s kontrolami jako s potenciálně infekčním materiálem.

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2-8 °C. Reagencie jsou stabilní do data expirace uvedené na štítku, jestliže jsou skladovány uzavřené a je zabráněno kontaminaci v průběhu jejich užívání.

Známky zhoršení kvality:

- Kapalně komponenty: Přítomnost částic, zákal.
- Mikrotitrační destičky: natržení sáčku, makroskopické defekty jako je poškrábání dna jamek.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Promývací pufr. Zředte koncentrovaný promývací pufr (A) destilovanou vodou v poměru 1/20. Pořádně promíchejte. Pro 1 strip se spotřebuje přibližně 50 ml promývací reagentie. Roztok je stabilní 30 dní při 2-8 °C.

Ostatní činidla jsou připravena k přímému použití.

DOPLŇUJÍCÍ VYBAVENÍ

- zvlhčovací komůrka
- promývací zařízení pro mikrotitrační destičky
- reader nebo fotometr s mikrokvetou a filtrem 450 ± 10 nm.

VZORKY

Sérum nebo plasma odebraná standardním způsobem. Vzorek před testováním zředte 1/100 ředícím pufr (B). Vždy používejte čerstvě naředěný vzorek.

PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte všechny činidla na pokojovou teplotu. (Poznámka 1).
2. Otevřete balíček s mikrotitračními destičkami (M) a vyjměte požadované množství pro stanovení (Poznámka 2).
3. Pipetujte po 100 µL každého zředěného vzorku, Cut-off standardu (CO), Pozitivní kontroly (C+), Negativní kontroly (C-) do odlišných jamek.
4. Stripy umístěte do zvlhčovací komůrky a inkubujte je při pokojové teplotě po dobu 30 minut.
5. Odsajte obsahy jamek a jamky promýjte 3krát po 300 µl promývacího pufru vždy po dobu nejméně 10 sekund (Poznámka 3 a 4).
6. Pipetujte do všech jamek po 100 µl konjugátu (D).
7. Stripy umístěte do zvlhčovací komůrky a inkubujte je při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
8. Promýjte jamky podle odstavce č. 5.
9. Pipetujte 100 µl substrátu (E) do všech jamek.
10. Stripy inkubujte 15 minut ve zvlhčovací komůrce při pokojové teplotě.
11. Pipetujte 100 µl zastavovacího roztoku (F) do všech jamek a inkubujte je po dobu 5 minut při pokojové teplotě. (Poznámka 5).
12. Odečtěte absorbanci jednotlivých jamek při 450 nm. Zbarvení je stabilní po dobu nejméně 30 minut.

VÝPOČET

Vypočtete absorbanční poměr:

$$\text{Absorbanční poměr} = \frac{A_{450 \text{ nm}} \text{ Vzorku}}{A_{450 \text{ nm}} \text{ Cut-off}}$$

Když jsou hodnoty absorbancí vyšší, než je horní měřicí limit readeru, vzorky naředte reagentem (B) a stanovení opakujte.

REFERENČNÍ HODNOTY

Vzorky, které mají vyšší absorbanční poměr jak 1,2 jsou považovány za pozitivní.

Vzorky, které mají nižší absorbanční poměr jak 1,0 jsou považovány za negativní.

Vzorky, které mají absorbanční poměr mezi 1,0 až 1,2 jsou považovány za nejasné a doporučuje se opakování analýzy.

Uvedené hodnoty jsou pouze orientační. Každá laboratoř by si měla stanovit svá vlastní rozmezí.

KONTROLA KVALITY

Absorbance pozitivní kontroly by měla být vyšší než 0,600 a u negativní kontroly nižší než 0,300. Absorbance Cut-off kontroly by měla být vyšší než 0,300.

Absorbanční poměr pro negativní kontrolu (C-) by měl být nižší než 1,0.

Každá laboratoř by si měla stanovit svojí vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.



KÓD 44785 96 Testů
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C
Reagencie pro stanovení anti-nukleárních protilátek (ANA) Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.

CHARAKTERISTIKA ZKOUŠKY

- Specifita: "ANA Lidská Referenční Séra" AF/CDC-1, AF/CDC-2 AF/CDC-4, AF/CDC-5, AF/CDC-7, AF/CDC-8, AF/CDC-9 a AF/CDC-10 z Centra pro kontrolu infekčních onemocnění (CDC), Atlanta, USA vykazovaly pozitivní výsledky.
- Interference: Hemoglobin (1000 mg/dl), bilirubin (40mg/dl) a triglyceridy (3000 mg/dl) neinterferují. Některé druhy léků a dalších látek mohou interferovat².

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Citlivost stanovení antinukleárních protilátek je vyšší než 95 % pro systémový lupus erythematosus (SLE), i když specifita je poměrně nízká³. Přítomnost vysokých hladin specifické ANA také svědčí pro jiná systémová revmatická onemocnění, jako je SLE vyvolaný léky, Sjögrenův syndrom, sklerodermie a varianty, polymyozitida a dermatomyozitida, CREST syndrom, smíšené onemocnění pojivové tkáně (MCTD) a revmatoidní artritida³.

Senzitivita a specifita pro skupinu onemocnění tvořenou SLE, sklerodermií, MCTD, primárním Sjögrenovým syndromem, polydermatomyozitidou a CREST syndromem při stanovení Biosystems ANA soupravou byla 98,9 % respektive 97,9 %, ve studii na 242 klinických vzorcích. Detailní studie je k dispozici na vyžádání.

U vzorků pozitivních k ANA se doporučuje provést další testy a určit přítomnost ostatních specifických protilátek.

Klinická diagnóza by neměla být uzavřena jen na základě tohoto výsledku, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní výsledky.

POZNÁMKY

1. Nepoužívejte reagencie z různých souprav.
2. Nepoužité stripy skladujte v uzavřeném plastickém sáčku společně s vysoušecím sáčkem.
3. Nepoškoďte povrch mikrotitračních destiček během manipulace.
4. Promývací roztok by měl být kompletně odstraněn z jamek.
5. Zastavovací roztok (F) enzymové reakce musí být pipetován do jamek přibližně ve stejném časovém odstupu jako substrát (E) v odstavci č.9.

LITERATURA

1. Butler JE. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. In: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
3. Hollingsworth PN et al. Antinuclear antibodies. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 15.4. 2025

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí.

Originální návod, LOT certifikát a bezpečnostní listy jsou k dispozici na internetové adrese: <https://einfo.bio> a na: www.jktrading.cz

Výhradní distributor:

ČR: JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5, 150 21 Praha 5,
tel.: +420 257 220 760, paha@jktrading.cz

SK: JK-Trading spol.s.r.o., Dlhá 43, 900 31 Stupava,
tel.: + 421 264 774 591, jk-trading@jk-trading.sk