



# ANTI – NUKLEOSOMÁLNÍ – PROTILÁTKY (NCL)



|                                                                                                                         |          |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Kód 44861                                                                                                               | 96 Testů |
| SKLADOVAT PŘI 2-8 °C                                                                                                    |          |
| Reagencie pro stanovení nukleosomálních protilátek.<br>Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích. |          |

## ANTI-NUKLEOSOMÁLNÍ – PROTILÁTKY (NCL)

### ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

#### PRINCIP METODY

Anti-nukleosomální protilátky ve vzorku se vážou na antigen navázaný na povrchu mikrotitračních destiček. V průběhu druhé inkubace se váže konjugát (křenuvou peroxidázou značené imunoglobuliny proti lidskému IgG) s protilátkami navázanými na povrchu jamky. Nakonec se přidává 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB) s H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 NCL protilátek ve vzorku<sup>1</sup>.

#### OBSAH A SLOŽENÍ

- A. Koncentrovaný promývací roztok.** 50 mL. Koncentrovaný fosfátem pufovaný fyziologický roztok, 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 anti – nukleosomálními protilátkami, azid sodný 15 mmol/L.
- C-. Negativní kontrola.** 1,5 mL. Lidské sérum bez anti-nukleosomálních protilátek, azid sodný 15 mmol/L.
- D. Konjugát** 15 mL. Křenuvou peroxidázou značené králičí polyklonální 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 KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte.*
- M. Mikrotitrační destičky:** 12 modulů po 8 rozlamovatelných jamkách s navázaným rekombinantním lidským nukleozomem.
- S1-S6. Standardy.** Každý po 1,5 mL. Připraveny k použití. Sérum s anti – nukleosomálními protilátkami, azid sodný 15 mmol/L. Koncentrace protilátek jsou: 0; 6,25; 12,5; 25; 50 a 100 U/mL, jak je uvedeno na štítku lahviček. Kalibrováno proti internímu referenčnímu standardu.

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

*Lidská séra použitá při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a sledována negativními 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. Důkladně promíchejte. Pro 1 strip se spotřebuje přibližně 50 ml promývací reagentie. Roztok je stabilní 30 dnů 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.

M44861i-05  
02/2019

BioSystems S.A. Costa Brava, 30. 08030 Barcelona (Spain)  
Quality System certified according to  
EN ISO 13485 and EN ISO 9001 standards

#### VZORKY

Sérum nebo plazma odebraná standardním způsobem. Vzorek před testováním zředte 1/100 ředícím pufr (B). Používejte vždy čerstvě naředěné vzorky.

#### PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte všechna činidla na pokojovou teplotu (Pozn. 1).
2. Otevřete balíček s mikrotitračními destičkami a vyjměte požadované množství pro stanovení (Pozn. 2).
3. Postup práce:  
**Kvantitativní stanovení:** Pipetujte po 100 µL každého standardu (S1-S6), Pozitivní kontroly (C+), Negativní kontroly (C-) a zředěného vzorku do odlišných jamek.  
**Kvalitativní stanovení:** Pipetujte 100 µL standardu S3, Pozitivní kontroly (C+), Negativní kontroly (C-) a zředěného vzorku do odlišných jamek. Pipetujte 100 µL ředícího roztoku (B) jako blank.
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. (Pozn. 3 a 4).
6. Pipetujte do všech jamek 100 µL konjugátu (D).
7. Stripy inkubujte ve zvlhčovací komůrce 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 ve zvlhčovací komůrce při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
11. Pipetujte 100 µL zastavovacího roztoku (F) do všech jamek a inkubujte po dobu 5 minut při pokojové teplotě. (Pozn. 5).
12. Odečtěte absorbanční hodnoty jednotlivých jamek při 450 nm za použití S1 standardu nebo jamky blanku pro vynulování přístroje. Zbarvení je stabilní po dobu nejméně 30 minut.

#### VÝPOČET

**Kvantitativní stanovení:** Vyneste do grafu hodnoty absorbancí pro každý standard proti koncentraci anti-nukleosomálních protilátek (U/mL). Koncentrace protilátek přítomných ve vzorku se vypočítá interpolací absorbance na kalibrační křivce (doporučená křivka: 4parametrická logistická).

#### Kvalitativní stanovení:

Vypočtete absorbanční Cut-off následovně:

$$A_{450 \text{ nm}} \text{ Cut-off} = A_{450 \text{ nm}} \text{ S3} \times 0,8$$

Vypočtete absorbanční poměr:

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

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

#### REFERENČNÍ HODNOTY

Vzorky, s koncentrací vyšší jak 10 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr vyšší jak 1,0 jsou považovány za pozitivní.

revize českého překladu 04/2025/VS



# ANTI – NUKLEOSOMÁLNÍ – PROTILÁTKY (NCL)



|                                                                                                                         |          |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Kód 44861                                                                                                               | 96 Testů |
| SKLADOVAT PŘI 2-8 °C                                                                                                    |          |
| Reagencie pro stanovení nukleosomálních protilátek.<br>Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích. |          |

## ANTI-NUKLEOSOMÁLNÍ – PROTILÁTKY (NCL)

### ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

Vzorky, s koncentrací nižší jak 10 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr nižší jak 1,0 jsou považovány za negativní. Uvedené hodnoty jsou pouze orientační. Každá laboratoř by si měla stanovit svá vlastní rozmezí.

#### KONTROLA KVALITY

Absorbance standardu S6 by měla být vyšší než 1,300. Koncentrace pozitivní kontroly (C +) by měla být mezi 20 U / ml a 35 U / ml a negativní kontrola (C-) by měla být nižší než 10 U / ml. Absorbanční poměr pro negativní kontrolu (C-) by měl být nižší než 1,0. Každá laboratoř by měla zavést vlastní vnitřní systém kontroly jakosti a postupy pro nápravná opatření, pokud kontroly nesplňují přípustné odchylky.

#### METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

- Opakovatelnost (jednoho vzorku):

| Koncentrace (střední) | CV    | n  |
|-----------------------|-------|----|
| 14,5 U/mL             | 4,5 % | 24 |
| 34,0 U/mL             | 3,1 % | 24 |
| 69,0 U/mL             | 6,4 % | 24 |

- Reprodukovatelnost (run to run):

| Koncentrace (střední) | CV     | n  |
|-----------------------|--------|----|
| 14,5 U/mL             | 12,4 % | 30 |
| 34,0 U/mL             | 7,3 %  | 30 |
| 69,0 U/mL             | 5,2 %  | 30 |

- Detekční limit: 0,25 U/mL.

- Anti nukleozomální souprava BioSystems rozpoznává pouze protilátky specifické k nukleozomům.

- Interference: Hemoglobin do 1000 mg/dL, bilirubin do 40mg/dL, triglyceridy do 3000 mg/dL neinterferují. Některé druhy léků a dalších látek mohou interferovat<sup>2</sup>.

- Rozsah měření: 1,5 – 100 U/mL. Jestliže získáte vyšší hodnoty, zředte vzorek ředícím pufrům (B) a opakujte stanovení.

#### DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Bylo zjištěno, že antinukleozomové protilátky jsou zvláště rozšířené u systémového lupus erythematosus (SLE) a lupusu indikovaného léky; jsou detekovány u 84-88 % pacientů. Bylo hlášeno u 16-30 % procent pacientů s lupusem, že mají anti-nukleozomové protilátky bez anti-dsDNA a anti-histonových protilátek. Některé zprávy ukazují, že anti-nukleozomové IgG protilátky jsou citlivější na SLE než anti-dsDNA a nacházejí se téměř výhradně u lupusu, sklerodermie a smíšeného onemocnění pojivové tkáně<sup>3,4,5</sup>.

Senzitivita a specifita pro SLE soupravou Biosystems byla ve studii s 330 klinickými vzorky stanovena na 89,1 % respektive 96,8 %. Podrobnosti studie jsou dostupné na požádání.

Klinická diagnóza by neměla být stanovena jen na základě výsledku jednoho testu, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní údaje.

#### POZNÁMKY

1. Nepoužívejte reagenty z různých souprav.
2. Skladujte nepoužité jamky v plastickém sáčku a uzavřete je společně s vysoušecím sáčkem.
3. Nepoškodte vnitřní povrch mikrotitračních destiček.
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. Burlingame RW. The clinical utility of antihistone antibodies. Autoantibodies reactive with chromatin in systemic lupus erythematosus and drug-induced lupus. Clin Lab Med 1997; 17(3): 367-378.
4. Amoura Z, Koutouzov S, Chabre H, Cacoub P, Amoura I, Musset L, Bach JF, Piette JC. Presence of antinucleosome autoantibodies in a restricted set of connective tissue diseases: antinucleosome antibodies of the IgG3 subclass are markers of renal pathogenicity in systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 2000; 43(1): 76-84.
5. Chabre H, Amoura Z, Piette JC, Godeau P, Bach JF, Koutouzov S. Presence of nucleosome-restricted antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 1995; 38(10): 1485-1491.

#### 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](http://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](mailto: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](mailto:jk-trading@jk-trading.sk)

V případě mimořádných událostí:

ČR: Toxikologické informační středisko (TIS), klinika pracovního lékařství VFN a LF UK, tel.: +420 224 91 92 93 a +420 224 91 54 02

SK: Toxikologické informačné centrum Bratislava, 833 05, Limbová 5, tel.: +421 254 774 166