



KÓD 44740 96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C
Reagencie pro stanovení ENA protilátek Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích

#### PRINCIP METODY

Specifické ENA 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> do každé jamky jako enzymový substrát. Vzniklá enzymatická barevná reakce je zastavena kyselinou. Žluté zbarvení reakce se měří při 450 nm a intenzita absorbance je úměrná koncentraci protilátek ve vzorku<sup>1</sup>.

#### 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. Ready to use. Lidské sérum s ENA protilátkami, azid sodný 15 mmol/L.
- C-. Negativní kontrola.** 1,5 mL. Ready to use. Lidské sérum bez anti-SSA(Ro), anti-SSB(La), anti-Sm, anti-Sm/RNP, anti-Jo1 a anti-Scl70 protilátek, azid sodný 15 mmol/L.
- CO Cut-off standard.** 1,5 mL. Ready to use. Lidské sérum s ENA 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 KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte..
- M. Mikrotitrační destičky:** 12 modulů po 8 jamkách s navázanou směsí antigenů SSA (Ro), SSB(La), Sm, Sm/RNP, Jo-1 a Scl70.  
*Pro další výstraha a varování viz bezpečnostní list.*

*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

Składujte 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 - ready to use.

#### PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- zvlhčovací komůrka
- promývací zařízení pro mikrotitrační destičky
- reader nebo fotometr s mikrokyvetou 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. ( Pozn.:1)
2. Otevřete balíček s mikrotitračními destičkami (M) a vyjměte požadované množství stripů pro stanovení. ( Pozn.: 2).
3. Pipetujte po 100 µL každého naředěného vzorku, Cut-off kontroly (CO), Pozitivní kontroly (C+) a 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 promyjte je 3-krát po 300 µl promývacího pufru (A) vždy po dobu nejméně 10 sekund (Poznámka 3 a 4).
6. Pipetujte do všech jamek 100 µl konjugátu (D).
7. Stripy umístěte do zvlhčovací komůrky a inkubujte je při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
8. Promyjte jamky podle odstavce č. 5.
9. Pipetujte po 100 µl substrátu (E) do všech jamek.
10. Vložte stripy do zvlhčovací komůrky a inkubujte je při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
11. Pipetujte 100 µl Stop roztoku (F) do všech jamek a inkubujte je při pokojové teplotě po dobu 5 minut. (Poznámka 5).
12. Odečtěte absorbanci jednotlivých jamek při 450 nm. Reader vynulujte za použití blankové jamky. Zbarvení je stabilní po dobu nejméně 30 minut.

#### VÝPOČET

Vypočítejte absorbanční poměr pro vzorky následovně:

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

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

#### REFERENČNÍ HODNOTY

Vzorky s absorbančním poměrem vyšším jak 1,0 jsou považovány za pozitivní.

Vzorky s absorbančním poměrem nižším jak 1,0 jsou považovány za negativní.

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

#### KONTROLA KVALITY

Absorbance pozitivní kontroly by měla být vyšší jak 1,000 a absorbance negativní kontroly by měla být nižší než 0,4000. Absorbance cut-off by měla být vyšší jak 0,400.

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

Každá laboratoř by si měla stanovit svoji vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v akceptovatelných tolerančních rozpětích.



## ENA 6-SCREENING



### ENA 6-SCREENING

### ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

KÓD 44740 96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C
Reagencie pro stanovení ENA protilátek Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích

#### CHARAKTERISTIKA ZKOUŠKY

- **Specifita:** "ANA Lidská Referenční Séra" AF/CDC-2, AF/CDC-4, AF/CDC-5, AF/CDC-7, 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 interferovat<sup>2</sup>.

#### DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Přítomnost vysokých hladin protilátek specifických k ENA indikuje na systémové revmatoidní onemocnění, jako jsou: Systémový Lupus Erythematosus, Sjögrenův syndrom, onemocnění sclerodermy, polymyositida, onemocnění tkáňových vaziv nebo revmatoidní artritida. Někteří lidé mohou mít vysoké hladiny ENA protilátek bez klinických příznaků a naopak pacienti se systémovým revmatoidním onemocněním mohou mít nedetekovatelné hladiny těchto protilátek<sup>3,4</sup>.

Senzitivita a specifita pro skupinu onemocnění způsobených SLE, onemocnění Sclerodermy, různých onemocnění pojivových tkání (MCTD), Sjögrenovým syndromem při stanovení Biosystems ENA screeningovou soupravou byla 92,7% a 96,3% ve studii na 135 klinických vzorcích. Detailní studie je k dispozici na vyžádání.

Doporučuje se, aby ENA pozitivní séra byla vyšetřena na jednotlivé specifické protilátky s jednotlivými specifickými soupravami.

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

#### POZNÁMKA

1. Nepoužívejte reagenty z různých souprav.
2. Nepoužité stripy skladujte v uzavřeném plastickém sáčku společně s vysoušecím sáčkem.
3. Nepoškodte 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
4. Charles PJ and Maini RN. Enzyme-linked immunosorbent assay in rheumatological laboratory. In: van Venrooij WJ and Maini RN eds. Manual of Biological Markers of Diseases. Kluwer Academic Publishers, 1996

#### UPOZORNĚNÍ

Příklad revidován k datu: 26.8.2016.

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme přezkoumat český překlad s originálním příbalovým letákem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí. Originální návod najdete v soupravě a na internetové adrese:

[www.biosystems.es](http://www.biosystems.es).

Český návod je k dispozici na: [www.iktrading.cz](http://www.iktrading.cz)

#### Výhradní distributor:

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

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

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