



ANTI- Jo1 PROTILÁTKY



Kód 44864	96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagencie pro stanovení anti-Jo1 protilátek Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> diagnostiku	

ANTI- Jo1 PROTILÁTKY

ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

PRINCIP METODY

Anti- Jo1 protilátky ze vzorku se váží na antigen Jo1 navázaný na povrchu mikrotitračních destiček. V průběhu druhé inkubace se váže konjugát (křenovou peroxidázou značené imunoglobuliny proti lidskému IgG) 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 zbarvení reakce se měří při 450 nm a intenzita absorpance 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. Ready to use. Lidské sérum s anti-Jo1 protilátkami, azid sodný 15mmol/l.
- C-. Negativní kontrola.** 1,5 mL. Ready to use. Lidské sérum bez anti- Jo1 protilátek, azid sodný 15 mmol/L.
- D. Konjugát.** 15 mL. Křenovou peroxidázou značené polyklonální králičí 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 vysocí purifikovaným antigenem Jo1.
- S1-S6. Standardy.** Každý po 1,5 mL. Ready to use. Sérum s anti-Jo1 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 ANA lidskému referenčnímu séru AF/CDC10 z centra pro kontrolu onemocnění (CDC), Atlanta, USA.

Pro další varování a doporučení – viz Karta bezpečnostních údajů (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 promývacího reagentu. Roztok je stabilní 30 dnů 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). Pro stanovení používejte vždy čerstvá ředění vzorků.

PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte všechny činidla na pokojovou teplotu. (Pozn.: 1).
2. Otevřete balíček s mikrotitračními destičkami a vyjměte požadované množství pro stanovení (Poznámka 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 obsah jamek a jamky promyjte 3-krát po 300 µl promývacího pufru vždy po dobu nejméně 10 sekund (Poznámka 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. Promyjte 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 při pokojové teplotě 5 minut. (Poznámka 5).
12. Odečtěte absorpaci 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 absorbanční hodnoty pro každý standard proti koncentraci anti-Jo1 protilátek (U/mL). Koncentrace anti-SSB(La) protilátek přítomných ve vzorku se vypočítá interpolací absorpance na kalibrační křivce (doporučená křivka: 4-parametrická logistická, cubic spline, jednostranná hyperbola).

Kvalitativní stanovení: Vypočtete absorpaci Cut-off následovně:

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

Vypočtete absorbanční poměr:

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

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



ANTI- Jo1 PROTILÁTKY



Kód 44864	96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagencie pro stanovení anti-Jo1 protilátek Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> diagnostiku	

ANTI- Jo1 PROTILÁTKY

ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

REFERENČNÍ HODNOTY

Vzorky s koncentrací větší než 12,5 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr vyšší jak 1,0 jsou považovány za pozitivní. Vzorky s koncentrací nižší než 7,5 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr nižší jak 1,0 jsou považovány za negativní. Vzorky s koncentrací mezi 7,5 až 12,5 U/mL jsou považovány za nejasné a doporučuje se opakování analýzy. Zvažte další testování pro diferenciální diagnózu. Uvedené hodnoty jsou pouze orientační. Každá laboratoř by si měla stanovit svá vlastní rozmezí

KONTROLA KVALITY

Absorbance standardu S6 by měla být vyšší jak 1,300. Koncentrace Pozitivní kontroly (C+) by měla být v rozmezí od 15 do 25 U/mL a Negativní kontroly (C-) by měla být nižší jak 7,0 U/mL. 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.

METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

– Opakovatelnost (jednoho vzorku):

U/ml	CV%	n
9,8	3,2	24
22,2	5,5	24
58,0	3,6	24

– Reprodukovatelnost (run to run):

U/ml	CV%	n
9,8	5,0	30
22,2	4,9	30
58,0	1,0	30

- Detekční limit: 0,5 U/mL
- Anti- Jo1 test je specifický pouze ke stanovení protilátek proti Jo1. Nebyly pozorovány žádné zkřížené reakce k jiným ENA antigenům.
- interference: Hemoglobin do 1000 mg/dL, bilirubin do 40 mg/dL a triglyceridy do 3000 mg/dL neinterferují. Nebyly zaznamenány interference používaných antikoagulantů. Některé druhy léků a dalších látek mohou interferovat².
- Rozsah měření: 0,5-100 U/mL. Jestliže získáte vyšší hodnoty, zředte vzorek ředícím puřem (B) a zopakujte stanovení.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Anti – Jo1 protilátky se téměř výhradně vyskytují u pacientů s některými druhy myositidy, zejména polymyositidy a s dermatomyozitidou a s dalšími přidruženými onemocněními, jako je intersticiální pneumonie a polyartritidy³. Tyto protilátky se vyskytují u přibližně 30% pacientů s polymyozitidou^{4,5}. Ve studii se 121 klinickými vzorkami byla senzitivita soupravy BioSystems anti Jo1 pro polymyozitidu a dermatomyozitidu 34,2% a specifická 96,3%. Podrobnosti studie jsou dostupné na vyžádání. Klinická diagnóza by neměla být stanovena jen na základě výsledku jednoho testu, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní údaje.

POZNÁMKA

1. Nezaměňujte reagenty ze souprav různých šarží.
2. Skladujte nepoužité jamky v plastickém sáčku a uzavřete je společně s vysoušecím sáčkem.

3. Nepoškozte 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. Maddison PJ. Aminoacyl-tRNA histidyl (Jo-1) synthetase autoantibodies. In: James B. Peter and Yehuda Shoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.
4. Arnett FC, Hirsch TJ, Bias WB, Nishikai M, Reichlin M. The Jo-1 antibody systems in myositis: relationships to clinical features and HLA. J Rheumatol 1981; 8:925-930.
5. Targoff IN, Plotz PH. The autoantibody system: anti-aminoacyl-tRNA synthetase antibodies. In: van Venrooij WJ and Maini RN eds. Manual of Biological Markers of Diseases. Kluwer Academic Publishers, 1996.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 29.08.2016
Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme přezkontrolovat 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.

Český návod je k dispozici na: 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