



kód 44765 96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C
Reagencie pro stanovení anti-SSA (Ro) protilátek Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.

## ANTI-SSA (Ro) PROTILÁTKY

### ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

#### PRINCIP METODY

Anti-SSA (Ro) protilátky ze vzorku se váží na SSA (Ro) antigen 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 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 roztok, 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-SSA (Ro) protilátkami.
- C-. Negativní kontrola.** 1,5 mL. Ready to use. Lidské sérum bez Anti-SSA (Ro) 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 KÚŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte.
- M. Mikrotitrační destičky:** 12 modulů po 8 rozlamovatelných jamkách s navázaným vysoce purifikovaným antigenem SSA(Ro).
- S1-S6. Standardy** Každý po 1,5 mL. Ready to use. Sérum s anti-SSA(Ro) 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/CDC7 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 promývací reagentie. 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 mikrokvetou a filtrem 450 ± 10 nm.

#### VZORKY

Sérum nebo plazma odebraná standardním způsobem. Vzorek před testováním zředte 1/100 ředícím pufr (B). Pro stanovení používejte vždy čerstvá ředění vzorků.

#### PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte všechna 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 obsahy 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 po dobu 5 minut. (Poznámka 5).
12. Odečtěte absorbanci 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-SSA(Ro) protilátek (U/mL). Koncentrace anti-SSA(Ro) protilátek přítomných ve vzorku se vypočítá interpolací absorbance na kalibrační křivce (doporučená křivka: 4-parametrická logistická).

**Kvalitativní stanovení:** Vypočtete absorbanci 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 absorbancí vyšší, než je horní měřicí limit readeru, vzorky naředte reagentem (B) a stanovení opakujte.

#### 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 jiné testy pro diferenciální diagnózu.



# ANTI-SSA (Ro) PROTILÁTKY



kód 44765 96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C
Reagencie pro stanovení anti-SSA (Ro) protilátek Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.

## ANTI-SSA (Ro) PROTILÁTKY

### ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

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 25 do 50 U/mL a Negativní kontroly (C-) by měla být nižší jak 5,0 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
16,1	1,4	24
36,6	1,3	24
67,0	1,8	24

– Reprodukovatelnost (run to run):

U/ml	CV%	n
16,1	3,2	30
36,6	3,1	30
67,0	0,6	30

- Detekční limit: 0,5 U/mL
- Anti-SSA(Ro) test je specifický pouze k protilátkám proti anti-SSA(Ro). 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 interferovat<sup>2</sup>.
- Rozsah měření: 0,5-100 U/mL. Jestliže získáte vyšší hodnoty, zředte vzorek ředícím puřem (B) a zopakujte stanovení.

#### DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Přítomnost vysokých hladin protilátek specifických k SSA(Ro) indikuje primární Sjögrenův syndrom a Systémový Lupus Erythematosus. Tyto protilátky lze nalézt přibližně u 60-70% pacientů se Sjögrenovým syndromem a u 40-50% pacientů s diagnózou SLE<sup>3,4,5</sup>.

Senzitivita pro Sjögrenův syndrom byla pro BioSystems soupravu anti-SSA(Ro) protilátek ve studii se 190 klinickými vzorky stanovena na 72,8% a specifita na 93,0%. 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 reagencie 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. AAC Press, 2000
3. Manoussakis MN, Kistis KG, Liu X, Aidinis V, Guialis A and Moutsopoulos HM. Detection of anti-Ro(SSA) antibodies in autoimmune diseases: comparison of five methods. British Journal of Rheumatology 1993; 32: 449-455
4. Reichlin M and Scofield RH. SSA(Ro) autoantibodies. In: James B. Peter and Yehuda Shoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.
5. Provost TT, Watson R and Simons-O'Brien E. Significance of the anti-Ro(SSA) antibody in evaluation of patients with cutaneous manifestations of a connective tissue disease. Journal of the American Academy of Dermatology 1996; 35: 147 – 69.

#### UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 13.6.2018.

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat 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.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

**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