



| | |
|---|----------|
| Kód 44868 | 96 Testů |
| SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C | |
| Reagencie pro stanovení anti- β 2-glykoprotein1 protilátek. Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích. | |

ANTI- β 2-GLYKOPROTEIN 1 PROTILÁTKY

ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

PRINCIP METODY

Protilátky proti β 2-glykoproteinu1 ze séra se vážou na antigen navázaný na povrchu mikrotitračních destiček. V průběhu druhé inkubace se váže konjugát (křenovou peroxidázou značené imunoglobuliny proti lidskému IgG nebo IgM) s protilátkami navázanými na povrchu jamky. Nakonec se přidává 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB) s H_2O_2 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 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 IgG/IgM** 1,5 mL. Ready to use. Sérum s protilátkami IgG/IgM proti β 2-glykoproteinu, azid sodný 15 mmol/L.
- C-. Negativní kontrola.** 1,5 mL. Lidské sérum bez protilátek proti β 2-glykoproteinu, azid sodný 15 mmol/L.
- DG. Konjugát IgG** 15 mL. Křenovou peroxidázou značené králičí polyklonální imunoglobuliny proti lidskému IgG.
- DM. Konjugát IgM** 15 mL. Křenovou peroxidázou značené králičí polyklonální imunoglobuliny proti lidskému IgM.
- E. Substrát.** 15 mL. 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB).
- F. Zastavovací roztok . 15 mL. Kyselina fosforečná 4,5%. 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 navázanými vysoce purifikovanými protilátkami proti β 2-glykoproteinu.
- S1-S6. Standardy Anti- β 2-GP1 IgG/IgM,** Každý po 1,5 mL. Ready to use. Lidské sérum Anti- β 2-GP1 IgG/IgM. Azid sodný 15 mmol/L. Koncentrace protilátek Anti- β 2- GP1 IgG jsou: 0, 6,25, 12,5, 25, 50 a 100 U/mL a koncentrace Anti- β 2-GP1- IgM jsou: 0, 6,25, 12,5, 25, 50 a 100 U/mL, jak je uvedeno na štítku lahviček. Kalibrováno proti mezinárodně uznávanému referenčnímu séru z E.N.Harris, Louisville.

Pro další varování a doporučení – viz Karta bezpečnostních údajů (SDS).

Lidská séra použitá při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a sledána negativně 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:

- Kapalné 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. Roztok je stabilní 30 dnů při 2-8°C. Pro 1 strip se spotřebuje přibližně 50 mL promývací reagentie.

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 plazma odebraná standardním způsobem. Vzorek před testováním zředte 1/100 ředícím pufr (B). K testování vždy používejte čerstvě naředěný vzorek.

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. **Kvantitativní stanovení:** Pipetujte po 100 μ L každého Standardu IgG/IgM (S1-S6), Pozitivní kontroly IgG/IgM (C+), Negativní kontroly (C-) a zředěného vzorku do odlišných jamek.
- **Kvalitativní stanovení:** Pipetujte 100 μ L standardu S3 IgG/IgM, Pozitivní kontroly IgG/IgM(C+), Negativní kontroly (C-) a zředěného vzorku do odlišných jamek. Pipetujte 100 μ L 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 μ L promývacího pufru vždy po dobu nejméně 10 sekund. (Poznámka 3 a 4).
6. Pipetujte do všech jamek 100 μ L konjugátu DG nebo DM.
7. Stripy inkubujte ve zvlhčovací komůrce při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
8. Promyjte jamky podle odstavce č. 5.
9. Pipetujte 100 μ L substrátu (E) do všech jamek.
10. Stripy inkubujte ve zvlhčovací komůrce při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
11. Pipetujte 100 μ L zastavovacího roztoku (F) do všech jamek a inkubujte po dobu 5 minut při pokojové teplotě. (Poznámka 5).
12. Odečtete 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- β 2-glykoprotein1 protilátek v U/mL. Koncentrace anti- β 2-glykoprotein1 protilátek přítomných ve vzorku se vypočítá interpolací absorbance na kalibrační křivce (doporučená křivka : 4-parametrická logistická).

Kvalitativní stanovení: Vypočtete absorbanci Cut-off následovně:

$$A_{450 \text{ nm}} \text{ Cut-off} = A_{450 \text{ nm}} \text{ S3} \times 0,6 \text{ (IgG)}$$

$$A_{450 \text{ nm}} \text{ Cut-off} = A_{450 \text{ nm}} \text{ S3} \times 0,6 \text{ (IgM)}$$

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 jak 8 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr vyšší jak 1,0 jsou považovány za pozitivní pro IgG/IgM.



| | |
|--|----------|
| Kód 44868 | 96 Testů |
| SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C | |
| Reagencie pro stanovení anti- β_2 -glykoprotein1 protilátek. Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích. | |

ANTI- β_2 -GLYKOPROTEIN 1 PROTILÁTKY

ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

Vzorky, s koncentrací nižší jak 5 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr nižší jak 1,0 jsou považovány za negativní pro IgG/IgM. Vzorky s koncentrací mezi 5 – 8 U/mL musí být považované za hraniční pro IgG/IgM a doporučuje se provést další stanovení. Zvažte další testy pro stanovení diferenciální diagnózy. 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 U/mL pro IgG/IgM. Koncentrace IgG/ IgM Pozitivní kontroly (C+) by měla být v rozmezí od 30 do 50 U/mL a u Negativní kontroly (C-) by měla být nižší jak 5 U/mL pro IgG/IgM. 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):

| anti- β_2 -GP1 (IgG) | | | anti- β_2 -GP1 (IgM) | | |
|----------------------------|------|----|----------------------------|-----|----|
| U/mL | CV % | n | U/mL | CV% | n |
| 13,4 | 5,0 | 24 | 14,7 | 3,8 | 24 |
| 24,3 | 2,1 | 24 | 30,0 | 2,1 | 24 |
| 88,0 | 2,8 | 24 | 67,9 | 2,1 | 24 |

- Reprodukovanost (run to run):

| anti- β_2 -GP1 (IgG) | | | anti- β_2 -GP1 (IgM) | | |
|----------------------------|------|----|----------------------------|-----|----|
| U/mL | CV % | n | U/mL | CV% | n |
| 13,4 | 7,4 | 30 | 14,7 | 6,3 | 30 |
| 24,3 | 7,9 | 30 | 30,0 | 4,1 | 30 |
| 88,0 | 2,6 | 30 | 67,9 | 4,3 | 30 |

- Detekční limit: pro IgG/IgM je 0,5 U/mL .
- Souprava pro stanovení β_2 -glykoproteinu1 detekuje pouze protilátky k β_2 -glykoproteinu1. Žádné zkřížené reakce k jiným protilátkám nebyly pozorovány.
- Interference: Hemoglobin do 1000 mg/dL, bilirubin do 40 mg/dL a triglyceridy do 3000 mg/dL neinterferují. Některé druhy léků a dalších látek mohou interferovat².
- Rozsah měření: 0,5 – 100 U/mL pro IgG/IgM. Jestliže získáte vyšší hodnoty, zředte vzorek ředícím pufrům (B) a opakujte stanovení.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

β_2 -glykoprotein 1 (β_2 -GP 1) je tvořen negativním fosfolipidovým řetězcem stejně tak jako kardiolipin a je primárním antigenem u anti-kardiolipidových protilátek³. Přítomnost anti- β_2 -GP1 protilátek v lidské plazmě, nebo v séru je indikací antifosfolipidového syndromu (APS), se zvýšeným rizikem vzniku trombózy, trombocytopenií a opakovaných potratů u pacientů s autoimunitními nemocemi, jako je SLE a s dalšími nesytémovými autoimunitními onemocněními⁴.

Anti- β_2 - GP1 protilátky jsou přítomné v IgG, IgM nebo IgA isotypu. IgG anti- β_2 - GP1 protilátky jsou specifitější než IgM a jsou diagnostikovány v různých fázích onemocnění. Stanovení IgM anti- β_2 - GP1 je důležité v diagnostice raných etap autoimunitního onemocnění. IgA anti- β_2 - GP1 protilátky mají patogenní roli při vzniku trombóz a APS⁵.

Přítomnost anti- β_2 -GP1 protilátek má vztah k SLE, trombozám, trombocytopenii, opakujícím se potratům a nitroděložním úmrtím⁵. Citlivost a specifita pro antifosfolipidový syndrom u soupravy BioSystems při stanovení IgG anti- β_2 - GP1 protilátek byla stanovena na 93,2 a 97,8% v klinické studii se 163 klinickými vzorky. Pro isotyp

IgM byla stanovena ve stejné studii citlivost 79,5% a specifita 97,8%. Detaily 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. Nepoužívejte jednotlivé reagencie 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. AAC Press, 2000.
3. McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta2-glycoprotein I (apolipoprotein H). Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87:4120-4124.
4. Hughes GRV. The antiphospholipid syndrome: ten years on. Lancet 1993; 342:341-344.
5. Matsuura E, Dier KJ, Lopez LR. β_2 -Glycoprotein I autoantibodies. In: Autoantibodies, Shoenfeld Y, Gershwin ME, Meroni PL., eds, 2nd edition, Elsevier, Amsterdam, 2007.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 15.6.2018

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.

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