



# ANTI-KARDIOLIPINOVÉ PROTILÁTKY (ACA-IgG/IgM)



kód 44780	96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagenty pro stanovení anti-kardiolipinových protilátek (ACA) Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích	

## ANTI-KARDIOLIPINOVÉ PROTILÁTKY (ACA)

ELISA  
MIKROTIČAČNÍ DESTIČKY

### PRINCIP METODY

Anti-kardiolipinové protilátky (ACA) ve vzorku séra se váží 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<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 absorbance je úměrná koncentraci ACA 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+. IgG / IgM Pozitivní kontrola.** 1,5 mL. Ready to use. Sérum s anti-kardiolipinovými IgG a IgM protilátkami, azid sodný 15 mmol/L.
- C-. Negativní kontrola.** 1,5 mL. Lidské sérum bez anti-kardiolipinových protilátek, azid sodný 15 mmol/L.
- DG. IgG Konjugát.** 15 mL. Křenovou peroxidázou značené polyklonální králičí imunoglobuliny proti lidskému IgG.
- DM. IgM Konjugát.** 15 mL. Křenovou peroxidázou značené polyklonální králičí 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 KÚŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte.
- M. Mikrotitrační destičky:** 12 modulů po 8 jednotlivě rozlamovatelných jamkách s navázaným kardiolipinem a β<sub>2</sub>-glykoproteinem 1.
- S1-S6.ACA IgG / IgM standardy.** Každý po 1,5 mL. Ready to use. Lidské sérum s IgG a IgM anti-kardiolipinovými protilátkami, azid sodný 15 mmol/L. Koncentrace ACA IgG protilátek jsou: 0; 7,5; 15; 30; 60; a 120 GPL, jak je uvedeno na štítku lahviček. Koncentrace ACA IgM protilátek jsou: 0, 5, 10, 20, 40 a 80 MPL, jak je uvedeno na štítku lahviček. Kalibrace byla provedena za použití mezinárodního referenčního antikardiolipinového standardu (GPL nebo MPL jednotek) proti mezinárodně doporučenému referenčnímu séru od E.N.Haris, Lousville a IgG specifickému referenčnímu materiálu IRP 97/656.

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

Lidská séra použitá při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a sledována 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

Skladujte při 2-8°C. Reagenty 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. Roztok je stabilní 30 dní při 2-8°C. Na jeden strip se spotřebuje přibližně 50 mL pufru. 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). 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 stripů pro stanovení (Pozn.: 2).
3. **Postup práce**
  - **Kvantitativní stanovení:** Pipetujte po 100 µL každého IgG/IgM standardu (S1-S6), IgG/IgM Pozitivní kontroly (C+), Negativní kontroly (C-) a zředěného vzorku do odlišných jamek.
  - **Kvalitativní stanovení:** Pipetujte po 100 µL standardu IgG/IgM (S3), IgG/IgM Pozitivní kontroly (C+), Negativní kontroly (C-) a zředěného vzorku do odlišných jamek. Pipetujte do jedné jamky 100 µL ředícího roztoku (B) jako blank.
4. Vložte stripy 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 100 µL IgG konjugátu (DG), nebo IgM konjugátu (DM) do všech jamek.
7. Vložte stripy do zvlhčovací komůrky a inkubujte je při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
8. Promyjte stripy podle odstavce č. 5.
9. Pipetujte 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 za použití S1 standardu, nebo blankové jamky pro vynulování přístroje. Zabarvení je stabilní po dobu nejméně 30 minut.

### VÝPOČET

**Kvantitativní stanovení:** Vyneste do grafu hodnoty absorbancí pro každý standard proti koncentraci kardiolipinu (GPL nebo MPL jednotky). Koncentrace ACA protilátek přítomných ve vzorku se vypočítá interpolací absorbance na kalibrační křivce (doporučená křivka : 4-parametrická logistická).

**Kvalitativní stanovení:** Vypočtete absorbanci Cut-off následovně:

$$A_{450 \text{ nm}} \text{ Cut-off} = A_{450 \text{ nm}} \text{ S3} \times 0,70 \text{ (IgG)}$$

$$A_{450 \text{ nm}} \text{ Cut-off} = A_{450 \text{ nm}} \text{ S3} \times 0,70 \text{ (IgM)}$$



# ANTI-KARDIOLIPINOVÉ PROTILÁTKY (ACA-IgG/IgM)



kód 44780	96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagenty pro stanovení anti-kardiolipinových protilátek (ACA) Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích	

## ANTI-KARDIOLIPINOVÉ PROTILÁTKY (ACA)

ELISA  
MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

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 ředícím roztokem (B) a stanovení opakujte.

### REFERENČNÍ HODNOTY

Vzorky s koncentračním poměrem  $\geq$  jak 10 GPL, nebo 7 MPL, nebo které mají absorbanční poměr vyšší jak 1,2 jsou považovány za pozitivní.

Vzorky, s koncentračním poměrem nižším jak 10 GPL, nebo 7 MPL, nebo které mají absorbanční poměr nižší jak 1,0 jsou považovány za negativní.

Vzorky s absorbančním poměrem mezi 1,0 až 1,2 mají být hodnoceny jako hraniční pro obě protilátky IgG a IgM a doporučuje se provést opakování testu včetně provedení diferenciální diagnostiky.

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

### KONTROLA KVALITY

Absorbance blanku by měla být nižší jak 0,150 pro obě protilátky IgG, nebo IgM.

Absorbance Standardu S6 by měla být vyšší jak 1,300 pro obě protilátky IgG, nebo IgM.

Koncentrace Pozitivní kontroly (C+) by měla ležet mezi 40-60 GPL, nebo 20-40 MPL a pro Negativní kontrolu (C-) by měla být nižší než 10 GPL nebo 7 MPL.

Absorbanční poměr pro Negativní kontrolu (C-) by měl být nižší než 1,0 pro obě protilátky IgG, nebo IgM.

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

### METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

– Opakovatelnost (jednoho vzorku):

GPL	CV %	n	MPL	CV%	n
29,1	5,4	30	8,4	3,7	30
62,5	5,8	30	40,1	4,5	30
109,4	4,1	30	58,6	5,3	30

– Reprodukovatelnost (run to run):

GPL	CV %	n	MPL	CV%	n
29,1	3,8	30	8,4	3,4	30
62,5	2,5	30	40,1	3,3	30
109,4	2,7	30	58,6	2,5	30

– Detekční limit: 1,0 GPL a 0,5 MPL

– ACA IgG /IgM test určuje pouze autoprotiilátky specifické ke kardiolipinu, nebo ke komplexu kardiolipin -  $\beta_2$ -glykoprotein1. Nebyly pozorovány žádné zkřížené reakce k anti-DNA a k protilátkám doprovázející syfilitické onemocnění.

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

– Rozsah měření: 1,0–120 GPL a 0,5–80 MPL. Jestliže jsou získány vyšší hodnoty, zředte vzorek ředícím puřem (B) a zopakujte stanovení.

### DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Ačkoliv jako první byli popsáni pacienti se Systémovým lupus erythematosus, ACA protilátky jsou přítomny i u pacientů s antifosfolipidovým syndromem. Anti-fosfolipidové protilátky reagují s negativně nabitými fosfolipidy včetně kardiolipinu<sup>3</sup>. Vysoké hladiny anti-kardiolipinových protilátek IgG nebo IgM v séru nebo plazmě jsou propojeny se zvýšeným rizikem trombózy a pulmonární embolie<sup>4</sup> a jsou důležitým rizikovým faktorem pro mozkovou příhodu<sup>5</sup> a pro opakující se fetální ztrátu<sup>6</sup>. Titr Anti-kardiolipinových protilátek může být snížen při používání kortikosteroidů<sup>7</sup>.

Senzitivita pro antifosfolipidový syndrom za použití soupravy BioSystems anti-Kardiolipinové protilátky byla 86,3% (IgG) – 41,1% (IgM) a specifická byla 96,0% (IgG) – 98,0% (IgM) jednotlivě ve studii u 223 klinických vzorků. Detailní zpráva o studii je k dispozici 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. 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. Harris EN, Gharavi AE, Hughes GR. Anti-phospholipid antibodies Clin Rheum Dis. 1985;11(3):591-609.
4. Ginsburg KS, Liang MH, Newcomer L, Goldhaber SZ, Schur PH, Hennekens CH, Stampfer MJ. Anticardiolipin antibodies and the risk for ischemic stroke and venous thrombosis. Ann Intern Med. 1992; 117(12): 997-1002.
5. Montalban J, Codina A, Ordi J, Vilardell M, Khamashta MA, Hughes GR. Antiphospholipid antibodies in cerebral ischemia. Stroke 1991; 22(6):750-3.
6. Lynch A, Marlari R, Murphy J, Davila G, Santos M, Rutledge J, Emlen W. Antiphospholipid antibodies in predicting adverse pregnancy outcome. A prospective study. Ann Intern Med. 1994;120(6):470-5
7. Asherson RA and Cervera R. The Antiphospholipid Syndrome. In: Lahita RG, editor. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, 2000.

### 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 uvedeného 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)



# ANTI-KARDIOLIPINOVÉ PROTILÁTKY (ACA-IgG/IgM)



kód 44780	96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagenty pro stanovení anti-kardiolipinových protilátek (ACA) Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích	

## ANTI-KARDIOLIPINOVÉ PROTILÁTKY (ACA)

ELISA  
MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

### Výhradní distributor:

**ČR** : JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5, 150 21 Praha5,  
tel.: +420 257 220 760

**SK** : JK-Trading spol.s.r.o., Mečíkova 30, 841 07 Bratislava,  
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 informační centrum Bratislava, 833 05,  
Limbová 5, tel.: +421 254 774 166