



ANTI-PR3 PROTILÁTKY



kód 44791	96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagenty pro stanovení anti-PR3 protilátek Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích	

ANTI-PR3 PROTILÁTKY

ELISA MIKROTIČAČNÍ DESTIČKY

PRINCIP METODY

Protilátky proti Anti-proteináze 3 (PR3) ze séra se váží na 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 H₂O₂ 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 PR 3 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. Sérum s anti-PR3 protilátkami, azid sodný 15 mmol/L.
- C-. Negativní kontrola.** 1,5 mL. Lidské sérum bez anti-PR3 protilátek, azid sodný 15 mmol/L.
- D. Konjugát** 15 mL. Křenovou peroxidázou značený imunoglobulin proti lidskému IgG.
- 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 navázanou vysoce purifikovanou myeloperoxidázou.
- S1-S6. Anti-PR3 standardy**, Každý po 1,5 mL. Ready to use. Lidské serum s Anti-PR3 protilátkami, azid sodný 15 mmol/L. Koncentrace anti-PR3 protilátek jsou: 0, 5, 10, 20, 40 a 100 U/ml, jak je uvedeno na štítku lahvíček. Kalibrace proti internímu referenčnímu standardu.

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

Lidská séra použitá při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a sledována negativní na přítomnost protilátek anti-HIV a anti-HCV, a stejně tak na HBs antigen. Nicméně zacházejte s kontrolami jako s potencionálně 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 sáčků, 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 připraveny 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 plasma odebraná standardním způsobem. Vzorek před testováním zředte 1/100 ředícím pufr (B). Pro testování použijte vždy čerstvě naředěný vzorek.

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 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 absorbanční hodnoty pro každý standard proti koncentraci anti-PR3 protilátek (U/mL). Koncentrace anti-PR3 protilátek přítomných ve vzorku se vypočítá interpolací absorbance na kalibrační křivce (doporučená křivka : 4-parametrická logistická, cubic spline, jednostranná hyperbola).

Kvalitativní stanovení: Vypočtete absorbanci Cut-off následovně:

$$A_{450 \text{ nm}} \text{ Cut-off} = A_{450 \text{ nm}} \text{ S3} \times 0,5$$

Vypočtete absorbanční poměr:

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

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

REFERENČNÍ HODNOTY

Vzorky, s koncentrací větší než 5 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr vyšší jak 1,0 jsou považovány za pozitivní. Vzorky, s koncentrací nižší než 5 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr nižší jak 1,0 jsou považovány za negativní.



ANTI-PR3 PROTILÁTKY



kód 44791	96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagenty pro stanovení anti-PR3 protilátek Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích	

ANTI-PR3 PROTILÁTKY

ELISA MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

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

KONTROLA KVALITY

Absorbance Standardu S6 by měla být vyšší jak 1,300.

Koncentrace Pozitivní kontroly (C+) by měla být v rozmezí od 25 do 45 U/mL a u Negativní kontroly (C-) by měla být nižší jak 5 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
10,9	4,7	24
24,6	2,8	24
58,5	2,8	24

- Reprodukovanost (run to run):

U/ml	CV%	n
10,9	6,2	30
24,6	8,8	30
58,5	3,9	30

- Detekční limit: 0,5 U/mL
- Souprava Anti-PR3 je specifická k protilátkám PR3. Žádné zkřížené reakce k ostatním 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. Jestliže získáte vyšší hodnoty, zředte vzorek ředícím pufrem (B) a zopakujte stanovení.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Existuje silná spojitost mezi anti-PR3 protilátkami a Wegenerovou granulomatosidou. Specifita je mezi 95-98%. Citlivost závisí na fázi a aktivitě onemocnění, bývá však kolem 90% u Wegenerove granulomatositidy (s nekrotizující glomerulonefritidou, systémovou vaskulitidou a granulomatózním zánětem respiračního traktu). A kolem 75% pro omezenou Wegenerovou granulomatositidu (bez renální účasti^{3,4,5}).

Senzitivita pro Wegenerovu granulomatosidu u soupravy BioSystems Anti-PR3 protilátky byla 85,2% a specifita 98,8% což bylo ověřeno ve studii u 311 klinických vzorků. U mikroskopické polyangiitidy (MPA) mikroskopickou polyangií byla senzitivita 53,3% a specifita 98,0% což bylo ověřeno ve studii u 165 klinických vzorků. Detaily studie jsou 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. Savige J, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ, Hagen EC, Jayne D, Jennette JC, Paspaliaris B, Pollock W, Pusey C, Savage CO, Silvestrini R, van der Woude F, Wieslander J, Wiik A. International Consensus statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). Am J Clin Pathol 1999;111:507-513.
4. Kallenberg CGM. ANCA: their clinical relevance. In: van Venrooij WJ, Maini RN, editors, Autoantibody Manual C7.1, 1-12. Kluwer Academic Publishers 1996
5. Gross WL, Csernok E, Szymkowiak CH. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for proteinase 3. En: Peter JB and Shoenfeld Y, editores, Autoantibodies, Elsevier Science, 1996.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 23.8.2016

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-sa.com.

Český návod je k dispozici na: www.jktrading.cz

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 informačné centrum Bratislava, 833 05, Limbová 5, tel.: +421 254 774 166