



Kód 44862	96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagenty pro stanovení protilátek proti histonům (HIST). Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.	

PROTILÁTKY PROTI HISTONŮM (HIST)

**ELISA
MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY**

PRINCIP METODY

Protilátky proti histonům 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 zbarvení reakce se měří při 450 nm a intenzita absorbance je úměrná koncentraci HIST protilátek ve vzorku¹.

OBSAH A SLOŽENÍ

- A. Koncentrovaný promývací roztok.** 50 mL. Fosfátový pufr, azid sodný 15 mmol/L.
- B. Ředící roztok** 100 mL. Tris, azid sodný 15 mmol/L.
- C+. Pozitivní kontrola.** 1,5 mL. Ready to use. Sérum s protilátkami proti histonům, azid sodný 15 mmol/L.
- C-. Negativní kontrola.** 1,5 mL. Lidské sérum bez protilátek proti histonům, 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 navázanými purifikovanými celkovými histony (H1, H2A, H2B, H3, H4).
- S1-S6. Standardy každý po 1,5mL.** Ready to use. Sérum s protilátkami proti histonům, azid sodný 15 mmol/L. Koncentrace HIST protilátek jsou: 0, 6.25, 12.5, 25, 50 a 100 U/ml, jak je uvedeno na štítku lahviček. Kalibrováno proti WHO referenčnímu standardu MRC 66/233 .

Pro další varování a doporučení – 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:

- 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. 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 mikrokvyvetou a filtrem 450±10 nm.

VZORKY

Sérum nebo plazma odebraná standardním způsobem. Vzorek před testováním zředte 1/100 ředícím pufrém. Ke stanovení použijte vždy čerstvě naředěné vzorky.

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 S3 Standardu, 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 umístěte do zvlhčovací komůrky a inkubujte je 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 je 5 minut při pokojové teplotě. (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 HIST protilátek (U/mL). Koncentrace protilátek přítomných ve vzorku se vypočítá interpolací absorbance na kalibrační křivce (doporučená křivka: 4-parametrická logistická).

Kvalitativní stanovení: Vypočtete absorbanci Cut-off následovně:

$$A_{450 \text{ nm}} \text{ Cut-off} = A_{450 \text{ nm}} \text{ S3} \times 1,6$$

Hodnota faktoru (F) je 1,6 a je vztažena na Pozitivní kontrolu S3, jako teoretický cut-off.

Vypočtete absorbanční poměr:

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

Jestliže jsou hodnoty absorbancí vyšší než je horní měřicí limit readeru, nařeďte vzorky reagentem (B) a stanovení opakujte.



Kód 44862	96 Testů
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagenty pro stanovení protilátek proti histonům (HIST). Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.	

PROTILÁTKY PROTI HISTONŮM (HIST)

**ELISA
MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY**

REFERENČNÍ HODNOTY

Vzorky s koncentrací větší jak 20 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr vyšší jak 1,0 jsou považovány za pozitivní. Vzorky, s koncentrací nižší jak 20 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr nižší jak 1,0 jsou považovány za negativní. 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. Koncentrace Pozitivní kontroly (C+) by měla být v rozmezí od 33 do 48 U/mL a u Negativní kontroly (C-) by měla být nižší jak 20 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
11,5	2,0	24
26,0	1,9	24
60,0	2,4	24

– Reprodukovatelnost (run to run):

U/mL	CV %	n
11,5	2,7	30
26	2,3	30
60	2,5	30

- Detekční limit: 0,5 U/mL. Souprava pro testování protilátek proti histonům je specifická k pouze k histonům. Nebyla pozorována žádná cross reaktivita proti DNA protilátkám.
- Interference: Hemoglobin (< 1000mg/dL), bilirubin (< 40mg/dL), triglyceridy (< 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 opakujte stanovení.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Autoprottilátky proti histonům se vyskytují téměř vždy u 20-50% pacientů se systémovým lupus erythematosus (SLE) a u 50-90% pacientů s lupusem vyvolaného léky. Tyto autoprottilátky nejsou specifické pro SLE, ačkoliv jsou často nalézány u lupusu erythematosus vyvolaného léky (3x vyšší výskyt než u SLE) a u revmatoidní artritidy^{3,4,5}.

Elisa stanovení soupravou BioSystems vykazovalo senzitivitu pro SLE přibližně 93% a specifitu 99% ve studii se 193 klinickými vzorky. Detaily klinické studie jsou dostupné na požádání. Klinická diagnóza by neměla být stanovena jen na základě výsledku jednoho testu, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní údaje.

POZNÁMKA

1. Nepoužívejte reagenty 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. AACC Press, 2000.
3. Slor H, Sobe T, Shoenfeld Y. Quantification of Anti-Nuclear Autoantibodies by Enzyme Immunoassay (EIA): Specificity, Correlation with Other Methods, and Clinical Significance. Quarterly Medical Review 1987; 1 (4).
4. Schoenfeld, Y, Segol O. Anti-Histone antibodies in SLE and other autoimmune diseases. Clin Exp Rheum 1989; 7: 265-271.
5. Cohen M G, Webb J. Anti-histone antibodies in Rheumatoid arthritis and Felty's syndrome. Arthr Rheum 1989; 32 (10): 1319-1324.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 14.6.2018.
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.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 informační centrum Bratislava, 833 05, Limbová 5, tel.: +421 254 774 166