

IMTEC-Salmonella-Antibodies Screen (cut-off)

Salmonella Screen

ELISA pro detekci protilátek proti

S. typhimurium a *S. enteritidis* (Ig(GAM))

Velikost balení

[REF] ITC40040 Kompletní sada 96 testů

[IVD]

Před testováním si pozorně přečtěte návod.

Procedurální opatření:

Nepoužívejte reagenty po datu expirace.

[DIL] DB14, [WASH][20x] WB03, [SUB] TMB ELISA a [STOP] STOP ELISA mohou být vzájemně vyměněny mezi šaržemi a testovacími soupravami, které mají stejné označení reagentů.

Všechny ostatní reagenty jsou specifické pro jednotlivé šarže testovacích souprav a nesmí se použít pro jiné šarže a testovací soupravy.

Reagenty skladujte při teplotě 2...8 °C.

Určené použití

IMTEC-Salmonella-Antibodies Screen (cut-off) je enzymová imunoanalýza (ELISA) pro kvalitativní měření autoprotilátek třídy IgG, IgM a IgA proti salmonelle v lidském séru. Test je určen pouze pro diagnostické použití in vitro jako pomůcka při diagnostice reaktivní artritidy.

Klinicky nejvýznamnější formy reaktivní artritidy (ReA) vznikají během několika dnů až týdnů po infekci urogenitálního traktu chlamydiemi a gastrointestinálního traktu salmonelami, yersinií, shigelou, respektive kampylobakterem. Až 40 % všech případů, včetně zvláštní formy Reiterova syndromu, je chronicky progresivních.

Proto je nezbytná včasná diagnóza založená na pečlivé klinické anamnéze a laboratorním vyšetření - včetně sérologického průkazu protilátek.

Dosud se k diagnostice salmonelové infekce nejčastěji používá Widalův aglutinační test, který však přednostně detekuje IgM protilátky, jež se obvykle objevují na počátku onemocnění. Přítomnost vysokých titrů IgA protilátek ukazuje na přetrvávání antigenů ve střevě nebo v kloubu a anti-IgG protilátky odrážejí předchozí infekci, která již není aktivní.

Test IMTEC ELISA detekuje všechny tři třídy imunoglobulinů IgG, IgM a IgA.. Jeho citlivost je vyšší než citlivost Widalova testu, který ze 130 pacientů se salmonelovou infekcí odhalil pouze 38,5 %, zatímco test ELISA odhalil 88,5 %.

Princip

Test je založen na absorpční imobilizaci LPS ze *Salmonella typhimurium* a *S. enteritidis* na pevné fázi mikrotitračních proužků a následné vazbě antisalmonelových protilátek ze séra pacienta.

Navázané protilátky se detekují pomocí sekundární protilátky značené peroxidázou, která je namířena proti lidskému IgG, IgM a IgA. Po přidání substrátového roztoku se objeví barva, jejíž intenzita je úměrná koncentraci a/nebo aviditě detekovaných protilátek. Po přidání stop roztoku se barva změní z modré na žlutou.

Reagenty a obsah

[MTP]	12	Mikrotitrační proužky (v 1 držáku proužků) 8jamkové snap-off proužky připravené k použití potažené LPS
[CC]	2 ml	Cut-off-control (bílý uzávěr), lidské, připraveno k použití
[NC]	2 ml	Negativní kontrolní sérum (zelený uzávěr), lidské, připraveno k použití
[PC]	2 ml	Pozitivní kontrolní sérum (červený uzávěr), lidské, připraveno k použití
[WASH][20x] WB03	50 ml	Promývací pufr (černý uzávěr) Koncentrát (20x) pro 1 l TRIS pufr pH 6,9 ± 0,2
[DIL] DB14	100 ml	Ředící pufr (modrý uzávěr) připravený k použití Fosfátový pufr pH 7,3 ± 0,2
[CON]	15 ml	Roztok konjugátu (bílý uzávěr) konjugát HRP proti lidskému IgGAM, připravený k použití

[SUB]	15 ml	Roztok TMB (černý uzávěr) připravený k použití, bezbarvý až namodralý 3,3', 5,5'-tetramethylbenzidin Peroxid vodíku	pH 3,7 ± 0,2 1,2 mmol/l 3 mmol/l
[STOP]	15 ml	Stop roztok (červený uzávěr) Kyselina sírová, připravená k použití	0,5 mol/l
STOP ELISA	1	Lepicí proužek	

Stabilita

Reagenty jsou stabilní až do data expirace uvedeného na jednotlivých štítcích, při skladování při teplotě 2...8 °C.

Příprava reagentů

Před použitím nechte testovací soupravu a všechny její součásti dosáhnout pokojové teploty! Použité lahvičky pečlivě uzavřete a skladujte při teplotě 2...8 °C. Skladujte [SUB] chráněně před světlem.

Pro manipulaci s [CON] nepoužívejte polystyrenové nádoby.

Aby se zabránilo možné mikrobiální a/nebo chemické kontaminaci, nepoužité reagenty by se nikdy neměly přelévát do původních lahviček.

Roztok promývacího pufru [WASH]

Případná zkrystalizovaná sůl uvnitř lahvičky musí být před použitím rozpuštěna. Zřeďte 1 díl [WASH][20x] 19 díly destilované vody. [WASH] je stabilní po dobu 6 týdnů při teplotě 2...8 °C.

Vzorek

Sérum pacienta

Použijte čerstvě odebrané vzorky nebo je zmrazte při -20 °C. **Zmrazte a rozmrazte pouze jednou.** Nepoužívejte vzorky séra inaktivované tepelnou úpravou při 56 °C.

Nechte vzorky dosáhnout pokojové teploty (30 minut). Zřeďte

séra 1:101 pomocí [DIL] (přidejte 10 µl séra na 1 ml [DIL]).

Postup

- **Pipetujte 100 µl** naředěného vzorku, [CC], [PC] a [NC] do [MTP], pro slepý vzorek použijte [DIL] místo naředěného vzorku, utěsněte [MTP] lepicím proužkem.
- Inkubujte **1 hodinu** při pokojové teplotě.
- Roztok z [MTP] zlikvidujte. Propláchněte [MTP] 3krát pomocí 300 µl [WASH] na jamku.
- Zlikvidujte [WASH] a zbytky vyklepejte na savý papír nebo látku.
- **Napipetujte 100 µl** [CON] a utěsněte [MTP] pomocí lepicího proužku.
- Inkubujte **30 minut** při pokojové teplotě.
- Roztok z [MTP] zlikvidujte. Propláchněte [MTP] 3krát pomocí 300 µl [WASH] na jamku.
- Zlikvidujte [WASH] a zbytky vyklepejte na savý papír nebo látku.
- **Pipetujte 100 µl** [SUB] a inkubujte **10 minut**. Při pokojových teplotách nad 25 °C lze inkubaci substrátu zkrátit, ale nikdy by neměla být kratší než 5 minut.
- **Přidejte 100 µl** [STOP] na jamku.
- Hodnoty absorbance při 450 nm odečtěte během následujících 10 min po zastavení. Doporučuje se dvouchromatické měření s referenční vlnovou délkou 620 - 690 nm.

Automatizace

Test IMTEC-Salmonella-Antibodies Screen (cut-off) ELISA lze zpracovat pomocí vhodných automatizovaných analyzátorů ELISA. Aplikace musí být před diagnostickým použitím validovány.

Validace testu

Výsledky testu jsou platné, pokud jsou splněna následující kritéria pro získané výsledky:

- [PC] > [CC].
- [PC] neklesne pod hodnotu absorbance 0,4.
- [NC] < [CC].
- [PC] / [CC] = 1,2 - 5,0

Za účelem zvýšení přesnosti výsledků testu doporučujeme provádět testy [PC], [CC], [NC] a vzorky pacientů ve dvou opakováních.

Interpretace výsledků

Interpretaci výsledků lze provést porovnáním absorbancí [CC] a vzorků:

- Absorbance > 1,1 x [CC] je třeba považovat za pozitivní.
- Absorbance < 0,9 x [CC] je třeba považovat za negativní.
- Absorbance $\geq 0,9 \times [CC]$ a $\leq 1,1 \times [CC]$ je třeba považovat za nejednoznačné.

Omezení

Pozitivní výsledek musí být použit ve spojení s klinickým hodnocením a diagnostickými postupy. Hodnoty získané tímto testem mají sloužit pouze jako pomůcka pro stanovení diagnózy.

Zvýšené protilátky proti salmonelám se mohou vyskytnout u jedinců bez známek klinického onemocnění.

Pokud vzorek pacienta obsahuje zvýšené množství imunokomplexů nebo jiných imunoglobulinových agregátů, nelze vyloučit falešně pozitivní výsledky způsobené nespecifickou vazbou.

Výkonnostní charakteristiky tohoto testu nebyly pro vzorky plazmy stanoveny.

Výkonnostní charakteristiky

Typické výkonnostní údaje naleznete ve verifikačním protokolu, který je přístupný na:

www.human.de/data/gb/vr/el-40040.pdf or

www.human-de.com/data/gb/vr/el-40040.pdf

Pokud výkonnostní údaje nejsou přístupné přes internet, lze je zdarma získat od místního distributora.

Bezpečnostní poznámky

[STOP] **Varování**

H315 Dráždí kůži.

H319 Způsobuje vážné podráždění očí.

[CON]

H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.

H412 Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.

[WASH][20x]

H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.

[CC] [NC] [PC] [WASH][20x] [DIL] [SUB] [STOP]

P234 Uchovávejte pouze v původním obalu.

P260 Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosoly. P262

Zabraňte styku s očima, kůží nebo oděvem.

P281 Používejte požadované osobní ochranné prostředky.

P303+P361+P353 PŘI STYKU S KÚŽÍ (nebo vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte.

P305+P351+P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyměňte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

P337 + P313 Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P401 Skladujte v souladu s místními/regionálními/národními/ mezinárodními předpisy.

P501 Odstraňte obsah/obal v souladu s místními/regionálními/ národními/ mezinárodními předpisy.

Se všemi vzorky od pacientů, kalibrátory a kontrolami je třeba zacházet jako s potenciálně infekčními. Všechny dárcovské jednotky lidského původu byly testovány na přítomnost HBsAg, HIV a HCV protilátek a byly shledány nereaktivními pomocí schválených metod. Všechny materiály živočišného původu se vyhýbají mnoha rizikům spojeným s použitím lidského séra (např. hepatitida B a C, HIV). Přesto je třeba se všemi materiály lidského nebo živočišného původu stále zacházet jako s potenciálně infekčním materiálem.

Odkazy

1. Isomäki O. *et al.*, Lancet June **24**, 1411-1414 (1989)
2. Mäki-Ikola O. *et al.*, J. Infect. Dis. **164**, 1141-1148 (1991)

EL-40040

INF ITC40040 GB

09-2023-015



Human