

# Myositis-LIA PL

## Myositis-LIA PL

### Lineární imunoanalýza (LIA) pro detekci protilátek u autoimunitní myozitidy (IgG)

(Jo-1, Mi-2, PM-Scl, U1-snRNP, Ku, PL-7, PL-12)

Velikost balení

[REF] ITC60201 24 Tests Komplení balení testů  
[IVD]

Před testováním si pečlivě přečtěte návod k použití.

#### Zamýšlené použití

MYOSITIS-LIA PL je nepřímý membránový enzymový imunologický test pro kvalitativní měření protilátek třídy IgG proti Jo1, Mi2, PM-Scl, U1-snRNP, Ku, PL-7 a PL-12 v lidském séru nebo plazmě. Test je určen pouze pro diagnostické použití in vitro jako pomůcka při diagnostice poly- a dermatomyozitidy a překryvných syndromů spojených s myozitidou.

Protilátky proti aminoacyl-t-RNA-syntetázám anti-Jo-1, anti-PL-7 a anti-PL-12 indikují antisyntetázový syndrom (ASS). Klinickými projevy antisyntetázového syndromu jsou často myozitida spojená s intersticiálním plicním onemocněním. U 60-80 % pacientů s ASS je pozitivní jedna z aminoacyl-t-RNA-syntetázových protilátek. Kromě toho mohou být zjištěny klinické příznaky, jako je artritida, Raynaudův fenomén, horečka a „mechanické ruce“.

S výjimkou protilátek proti Jo-1, které u idiopatické myozitidy vykazují prevalenci 20-30 %, jsou protilátky proti syntetáze vzácné. PL-7 a PL-12 mají prevalenci nižší než 5 %.

Protilátky anti-Mi2 jsou detekovatelné u 10-15 % pacientů s akutní dermatomyozitidou.

Protilátky anti-PM-Scl se vyskytují téměř výhradně u pacientů s idiopatickou myozitidou a/nebo překryvným syndromem myozitidy či sklerodermie. Pokud jsou nalezeny, vyskytují se pouze výjimečně. Míra rozpoznání protilátkami PM-Scl je 100 % pro protein PM-Scl-100 a 50 až 60 % pro protein PM-Scl-75. V případě, že se jedná o protilátky proti PM-Scl, je možné, že se jedná o protilátky proti PM-Scl.

Protilátky proti U1-snRNP jsou považovány za diagnostický marker smíšeného onemocnění pojivové tkáně (MCTD), které je také označováno jako „Sharpův syndrom“. Při použití v této indikaci dosahují protilátky 100% senzitivity (podle definice) a 98% specifity při absenci protilátek anti-Sm a anti-dsDNA.

Protilátky anti-Ku jsou detekovatelné přibližně u 5-25 % pacientů s překryvným syndromem polymyozitida/sklerodermie a s nižší frekvencí u pacientů s primární plicní hypertenzí, SLE (v kombinaci s dalšími ANA specifiky), primárním Sjögrenovým syndromem a vzácně u dalších onemocnění pojivové tkáně. Celkově jsou protilátky Ku detekovatelné u 1-7 % pacientů s myozitidou.

#### Princip

Test je založen na principu liniového imunoanalýzy (LIA). Antigeny se nanášejí jako linie na nitrocelulózovou membránu:

antigens	identita
Jo-1	rekombinantní
Mi-2	rekombinantní
PM-Scl	rekombinantní
U1-snRNP	rekombinantní
Ku	rekombinantní
PL-7	rekombinantní
PL-12	rekombinantní

Nitrocelulózová membrána je blokována, aby se zabránilo nespecifickým reakcím. Během inkubace proužku se zředěnými vzorky pacientů se autoprottilátky přítomné ve vzorku naváží na antigeny na proužku. K detekci navázaných protilátek se používá sekundární protilátka proti lidskému IgG značená křenovou peroxidázou (HRP). Po přidání substrátu a stop roztoku se objeví hnědé čáry, které indikují existenci (auto)protilátek proti příslušnému antigenu.

Kit Content		
[STRIP]	24	Testovací proužky (světle modré barevné značení) potažené antigenem (viz tabulka), připravené k použití
[DILxLIA]	30 ml	Ředící pufr připravený k použití (modrý uzávěr)
DBO2		
[WASH][20x]	50 ml	Promývací pufr (černý uzávěr) koncentrát (20x) pro 1 l pufru
WB03		
[CON]	29 ml	Roztok konjugátu (bílý uzávěr) konjugát HRP proti lidskému IgG,
[SUBxLIA]	30 ml	Roztok substrátu (černý uzávěr), připravený k použití bezbarvý až namodralý 3,3', 5,5'-tetramethylbenzidin 1,2 mmol/l peroxid vodíku 2,4 mmol/l Stop roztok (červený uzávěr) kyselina sírová, připravená k použití 0,1 mol/l
	2 pcs.	Inkubační zásobník
	1 pc.	Bodovací list, pinzeta, lepicí list, průhledná hodnoticí šablona, stručná příručka

#### Bezpečnostní poznámky

Reagencie nepolykejte. Zabraňte kontaktu s očima, kůží a sliznicemi. Se všemi vzorky od pacientů je třeba zacházet jako s potenciálně infekčními. Používejte ochranný oděv a jednorázové rukavice v souladu se správnou laboratorní praxí.

Všechny materiály kontaminované vzorky pacientů nebo kontrol by měly být inaktivovány validovanými postupy (autoklávnování nebo chemické ošetření) v souladu s platnými předpisy.

#### Stabilita

Při skladování při teplotě 2...8 °C jsou neotevřené lahvičky stabilní až do data použitelnosti.

[WASH] (po rekonstituci) a otevřené reagencie jsou stabilní po dobu 6 týdnů při 2...8°C.

Uchovávejte [SUBxLIA] chráněně před světlem.

#### Bezpečnostní opatření

Během všech inkubačních kroků používejte houpací třepačku.

[DILxLIA] DBO2, [WASH][20x] WB03 a [SUBxLIA] mohou být zaměněny mezi šaržemi a testovacími soupravami LIA, které mají stejné označení činidla.

Všechna ostatní činidla jsou specifická pro jednotlivé šarže testovacích souprav a nesmí se zaměňovat s jinými šaržemi a testovacími soupravami.

Pro manipulaci s [CON] nepoužívejte polystyrenové nádoby.

Jakákoli krystalická sůl [WASH][20x] uvnitř lahvičky musí být před použitím rozpuštěna.

Během inkubace nevysušujte [STRIP].

Nedotýkejte se [STRIP] prsty, používejte pinzetu.

Po inkubaci přípravku [STRIP] zředěné vzorky zcela odstraňte, aby nedošlo ke křížové kontaminaci.

#### Vzorek

Sérum a plazma s protisrážlivými látkami citrátem nebo EDTA.

Nepoužívejte vysoce lipemické, hemolyzované nebo ikterické vzorky.

Neředěné vzorky lze skladovat při teplotě 2...8 °C po dobu až 5 dnů nebo po dobu jednoho roku při -20 °C. Zmrazte a rozmrazte pouze jednou. Rozmražený vzorek by měl být pečlivě homogenizován. Odstraňte pevné částice odstředěním nebo filtrací.

Vzorek naředte v poměru 1:101 s rekonstituovanou [DILxLIA] (10 µl séra + 1ml [DILxLIA]).

#### Příprava činidla

Před použitím upravte všechna činidla na pokojovou teplotu (15...25 °C).

Nepoužívaná činidla by měla být vždy skladována při teplotě 2...8°C.

Promývací pufr [WASH]

Zředte 1 díl [WASH][20x] s 19 díly destilované vody.

## Postup

### Postup mytí

Postup mytí je velmi důležitý. Nedostatečné promytí má za následek špatnou přesnost nebo falešně vysokou intenzitu pásů.

W1: Úplně odstraňte kapaliny.

W2: Přidejte [WASH] a inkubujte 5 minut za mírného míchání.

W3: Po promytí odstraňte zbývající kapalinu.

### Schéma pipetování

Postupujte přesně podle popisu. Zvláštní pozornost věnujte postupu mytí!	
Reagencie a vzorky by měly mít před použitím pokojovou teplotu.	
Během všech inkubačních kroků používejte houpací třepačku.	
<b>Příprava vzorků:</b>	
Vzorek naředte v poměru 1:101 s [DIL][LIA] DB02. (10 µl séra + 1 ml [DIL][LIA])	
Pro každou jamku je potřeba 1 ml.	
1. krok	Well [ml]
Vložte [STRIP] do inkubační misky barevným kódem nahoru	--
[WASH] pro navhčení membrány	1
Inkubujte 1 minutu při pokojové teplotě	
Odstraňte [WASH]	
2. krok	
<b>Zředěné vzorky</b>	1
Inkubujte 30 minut při pokojové teplotě	
Třikrát promyjte podle popisu (viz W1 - W3).	
[WASH]	1
3. krok	
[CON]	1
Inkubujte 30 minut při pokojové teplotě	
Třikrát promyjte podle popisu (viz W1 - W3).	
[WASH]	1
4. krok	
[SUB][LIA]	1
Inkubujte 10 minut při pokojové teplotě	
Odstraňte [SUB][LIA]	
5. krok	
Přidejte destilovanou vodu	1
Inkubujte 1 minutu při pokojové teplotě	
Odstraňte destilovanou vodu	
[STOP][LIA]	1
Inkubujte 5 minut při pokojové teplotě	
Odstraňte [STOP][LIA]	
Důkladně osušte [STRIP]	

### Automatizace

MYOSITIS-LIA PL lze zpracovávat pomocí vhodných automatických analyzátorů Blot. Aplikace musí být před diagnostickým použitím validovány. Pro automatizovanou interpretaci proužků LIA použijte HumaScan ([REF] ITC02850j).

### Validace testu

Výsledky testu jsou platné, pokud jsou pro každý [STRIP] splněna následující kritéria:

- Kontrola funkce je viditelná.
- Je viditelná kontrola cut-off.
- Funkční ovládání intenzity > ovládání mezní intenzity

### Interpretace výsledků

Připevňte [STRIP] na skórovací list a srovnajte referenční čáru [STRIP] s referenční čárou na skórovacím listu.

Zarovnejte přerušovanou referenční čáru hodnotící šablony s referenční čárou [STRIP].

Interpretace výsledků testu se provádí výhradně na základě příslušné hraniční kontroly považované pro každý [STRIP].

Výsledek testu je negativní, pokud není rozpoznán žádný pruh nebo pokud pruh vykazuje menší intenzitu ve srovnání s hraniční kontrolou.

Test je nejednoznačný, pokud se intenzita pásu a intenzita kontroly cut-off významně neliší.

Výsledek testu je pozitivní, pokud pás vykazuje silnější zbarvení ve srovnání s hraniční kontrolou.

Zaznamenejte příslušné výsledky testu do hodnotícího listu.

### Omezení

Pozitivní výsledek musí být použit ve spojení s klinickým hodnocením a diagnostickými postupy. Hodnoty získané tímto testem jsou určeny pouze jako pomůcka pro diagnostiku.

Intenzita zbarvení pásu nemusí nutně korelovat s titry protilátek získanými jinými referenčními metodikami. Vzorky od zdánlivě normálních dárců krve mohou obsahovat autoprottilátky.

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

### Výkonnostní charakteristiky

Typické výkonnostní údaje naleznete v ověřovací zprávě, která je přístupná prostřednictvím:

[www.human.de/data/gb/vr/la-60201.pdf](http://www.human.de/data/gb/vr/la-60201.pdf) nebo

[www.human-de.com/data/gb/vr/la-60201.pdf](http://www.human-de.com/data/gb/vr/la-60201.pdf)

Pokud nejsou výkonnostní údaje přístupné přes internet, lze je bezplatně získat u místního distributora.

### Poznámka

Manipulace by měla být vždy v souladu s běžnými požadavky SLP (\*)! Musí být splněna validační kritéria!

(\*To zahrnuje: Odstraňte ze zásobních roztoků pouze činidla potřebná pro běh, pokud by mohla přijít do styku s jinými kontaminujícími roztoky, jako jsou vzorky pacientů apod. / Zásobní roztoky se vždy vrátí na teplotu 2...8 °C, pokud se nepoužívají.)

### Barevné kódování

Barevné kódování připojené nad odkazem slouží k identifikaci dostupných testů LIA.

Barevné kódování -MYOSITIS-LIA PL: světle modrá

### Bezpečnostní poznámky

[STOP] Pozor!

- Výstražné věty

H315 Způsobuje podráždění kůže.

H319 Způsobuje vážné podráždění očí.

[CON]

H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.

H412 Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.

[WASH][20X], [DIL][LIA]

H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.

[WASH][20X] [DIL][LIA] [CON] [SUB][LIA] [STOP][LIA].

- Preventivní prohlášení

P280 Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranu očí/ochranu obličeje.

P305+P351+P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Opatrně několik minut vyplachujte vodou.

Vyjměte kontaktní čočky, pokud jsou přítomny a lze je snadno vyjmout.

Pokračujte ve vyplachování.

P321 Specifické ošetření (viz na této etiketě).

P362 Před opětovným použitím svlékněte kontaminovaný oděv a vyperte jej.

P332+P313 Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/opatření.

### Reference

1. Conrad K. et al., Autoantibodies in Systemic Autoimmune Diseases - A Diagnostic Reference; Pabst Science Publishers, Lengerich, 2007.
2. Sato S, et al., Clinical characteristics of Japanese patients with anti-PL-7 (anti-threonyl-tRNA synthetase) autoantibodies, Clin Exp Rheumatol. 23, 609-615 (2005).
3. Betteridge Z.E. et al., Novel autoantibodies and clinical phenotypes in adult and juvenile myositis (Nové autoprottilátky u myozitidy dospělých a juvenilních jedinců). Arthritis Research & Therapy 13, 209 (2011).
4. Solomon J. et al., Myositis-related interstitial lung disease and antisynthetase syndrome (Intersticiální plicní onemocnění související s myozitidou a antisynthetázovým syndromem), J Bras Pneumol. PMC 2013 June 9. LA-60201 INF ITC60201 GB 010-2023-005 |

