

IMTEC-Liver-LIA S

Liver-LIA S

Lineární imunoanalýza (LIA) pro detekci autoprotilátek u autoimunitních onemocnění jater (IgG) (AMA M2, Sp100, LKM1, gp210, LC1, SLA)

Velikost balení

[REF]	ITC66205	24 Testů	Kompletní Test kit
[VD]			

Před testováním si pečlivě přečtěte návod k použití.

Určené použití

IMTEC-Liver-LIA S je nepřímá membránová enzymová imunoanalýza pro kvalitativní měření protilátek třídy IgG proti AMA M2, Sp100, LKM1, gp210, LC1 a SLA v lidském séru nebo plazmě. Test je určen pouze pro diagnostické použití in vitro jako pomůcka při diagnostice autoimunitních onemocnění jater.

Autoimunitní hepatitida (AIH) typ 1-3, primární biliární cirhóza (PBC) a imunitní cholangiopatie, považovaná za překryvný syndrom mezi AIH a PBC, patří mezi nejčastější autoimunitní onemocnění jater.

Antimitochondriální protilátky (AMA) namířené proti vnitřní a vnější mitochondriální membráně jsou vysoce specifické pro PBC.

Protilátky namířené proti základnímu antigenu M2 lze detekovat přibližně u 90 % všech pacientů s PBC.

Protilátky anti-Sp100 lze detekovat u 31 % všech pacientů s PBC. Tyto protilátky nejsou detekovatelné u jiných autoimunitních onemocnění jater. Vzhledem k vysoké specifitě jsou protilátky anti-Sp100 považovány za markery PBC.

Protilátky anti-gp210 lze detekovat přibližně u 10 % všech pacientů s primární biliární cirhózou a jsou považovány za vysoce specifické pro PBC. Ve skupině AMA negativních pacientů jsou tyto protilátky detekovány s frekvencí 21 %.

Protilátky anti-LKM1 jsou považovány za markery autoimunitní hepatitidy 2. typu. Lze je však také zjistit přibližně u 7 % pacientů s chronickou hepatitidou C a ve velmi vzácných případech u pacientů s halo-ťhanovou hepatitidou.

Protilátky anti-LC1 (jaterní cytosolické protilátky) jsou detekovatelné především u mladých pacientů s AIH typu 2. Nejméně 50-60 % pacientů s anti-LKM1 protilátkami vykazuje anti-LC1 protilátky jako sekundární markerové protilátky. Nicméně obě protilátky se mohou vyskytovat izolovaně.

Autoimunitní hepatitida typu 3 je charakterizována výskytem protilátek proti rozpustným jaterním antigenům (SLA). Protilátky anti-LKM1 nejsou u tohoto typu hepatitidy detekovatelné a v mnoha případech se nevyskytují ani protilátky ANA a protilátky proti jaterním membránám.

Princip použití

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

antigeny	identita
PDH (AMA M2)	původní
Sp100	rekombinantní, patentované
LKM1	peptid, patentovaný
gp210	peptid
LC1	rekombinantní
SLA	rekombinantní, patentované

Nitrocelulózová membrána je blokována, aby se zabránilo nespecifickým reakcím. Během inkubace proužku se zředěnými vzorky pacientů se autoprotilátky 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.

Obsah balení

[STRIP]	24	Testovací proužky (hnědé barevné označení) potažené antigenem (viz tabulka), připravené k použití
[DIL]LIA	30ml	Ředící pufr připravený k použití (modrý uzávěr)
DB02		
[WASH]20x	50 ml	Promývací pufr (černý uzávěr) koncentrát (20x) pro 1 l pufry
WB03		
[CON]	29 ml	Roztok konjugátu (bílý uzávěr) konjugát anti-human-IgG, připravený k použití

[SUB]LIA	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]LIA	30ml	Stop roztok (červený uzávěr) kyselina sírová, připravená k použití	0.1 mol/l
	2 ks	Inkubační zásobník	
	1 ks	Bodovací list, pinzeta, lepicí list, průhledná hodnotící šablona	
	každý		

Bezpečnostní pokyny

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 (autoklování nebo chemické ošetření) v souladu s platnými předpisy.

Stabilita

Neotevřené injekční lahvičky jsou při skladování při teplotě 2...8 °C stabilní až do uplynutí doby použitelnosti.

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

Uchovávejte [SUB]LIA chráněně před světlem.

Bezpečnostní opatření

[DIL]LIA DB02, [WASH]20x WB03 a [SUB]LIA lze zaměňovat mezi šaržemi a 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 [STRIP] zředěné vzorky zcela odstraňte, aby nedošlo ke křížové kontaminaci.

Vzorek, kontroly

Sérum a plazma s antikoagulanty citrátem nebo EDTA.

Nepoužívejte vysoce lipemické, hemolyzované nebo ikterické vzorky.

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

Příprava činidla

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

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

Roztok promývacího pufry [WASH]

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

Postup

Postup promývání

Promývací postup je kritický. Nedostatečné promývání bude mít 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!	
<ul style="list-style-type: none">Reagencie a vzorky by měly mít před použitím pokojovou teplotu.Během všech inkubačních kroků použijte houpací třepačku.	
Příprava vzorku: DILxLIA] DB02: Vzorek naředte v poměru 1:101. (10 µl séra + 1 ml [DILxLIA]) Pro každou jamku je potřeba 1 ml.	
1. krok	Well [ml]
Vložte [STRIP] do inkubační misky barevným kódem nahoru.	--
[WASH] pro navlhčení membrány	1
Inkubujte 1 minutu při pokojové teplotě	
Odstranit [WASH]	
2. krok	
Zředěné vzorky	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 vyperte podle popisu (viz W1 - W3).	
[WASH]	1
4. krok	
[SUBxLIA]	1
Inkubujte 10 minut při pokojové teplotě	
Odstranění [SUBxLIA]	
5. krok	
Přidejte destilovanou vodu	1
Inkubujte 1 minutu při pokojové teplotě	
Odstranění destilované vody	
[STOP[LIA]	1
Inkubujte 5 minut při pokojové teplotě	
Odstranění [STOP[LIA]	
Důkladně vysušte [STRIP]	

Automatizace

IMTEC-Liver-LIA S lze zpracovávat pomocí vhodných automatických analyzátorů Blot. Aplikace musí být před diagnostickým použitím validovány. Pro automatizovanou interpretaci proužků LIA použijte HumaScan ([REF] ITC02850).

Ověřování testů

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

- Funkce ovládní je viditelná.
- Je viditelná kontrola vypnutí.
- Ovládní funkce intenzity > ovládní vypnutí intenzity

Interpretace výsledků

Přípevněte [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 kontrolní hranice považované za hraniční pro každý [STRIP]:

Výsledek testu je negativní, pokud není rozpoznán žádný pás nebo pokud pás vykazuje menší intenzitu ve srovnání s kontrolní hranicí.

Test je nejednoznačný, pokud se intenzita pásu a intenzita hraniční kontroly významně neliší. V případě nejednoznačného výsledku je třeba test opakovat s novým vzorkem.

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 autoprotilátky.

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

Výkonnostní charakteristiky

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

Můžete se podívat na stránky www.human.de/data/gb/vr/la-66205.pdf nebo www.human-de.com/data/gb/vr/la-66205.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.)

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] [DILxLIA]

H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.

[DILxLIA] [WASH] [CON] [STOP]xLIA [SUB]LIA

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] [DILxLIA]

H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.

Preventivní prohlášení

P234 Uchovávejte pouze v původním obalu.

P260 Nevdechujte prach/dým/plyn/hmlu/výpar/výfuk.

P262 Nevstupujte do očí, na kůži ani na oděv.

P281 Podle potřeby použijte osobní ochranné prostředky.

P303+P361+P353 PŘI STYKU S KÚŽÍ (nebo vlasy): Okamžitě vsákněte veškerý kontaminovaný oděv. Opláchněte kůži vodou/sprchou.

P305+P351+P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Opatrně několik minut vyplachujte vodou. Vyměňte kontaktní čočky, jsou-li přítomny a lze-li to snadno provést. Pokračujte ve vyplachování.

P337+P313 Pokud podráždění očí přetrvává: Vyhledejte lékařskou pomoc/opatření.

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

P410 Chraňte před slunečním zářením.

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

Odkazy

- Klafki M. et al., Posterabstract C11. 3, Dresden Symposium on Autoanti-bodies 71, Drážďany (1996)
- Manns M.P., Liver/Kidney Microsomal Autoantibodies, in Autoantibod-ies. Peter J.B. a Shoenfeld Y. (eds). Elsevier Science BV. Amsterdam, Lausanne, New York, Oxford, Shannon, Singapur, Tokio (1996).
- McFarlane I.G., Scand. J. Clin. Lab. Invest. 61, 53-60 (2001)
- Bandin O. et al., Hepatology 23, 1020-1024 (1996)
- Berg, P.A. et al., Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 87, 921-927 (1981)
- Lohse, A.W., DE-Patent 19805815
- Wies, L. et al., The Lancet, 355, 1510-1515 (2000).

LA-66205

INF ITC66205 GB

010-2023-019

