

IMTEC-Vasculitis-LIA

Vasculitis LIA

Lineární imunoanalýza (LIA) pro detekci protilátek u autoimunitní vaskulitidy (PR3, MPO a GBM)

Velikost balení

[REF]	ITC82040	24 Tests	Kompletní balení testů
[IVD]			

Před testováním si pozorně přečtěte návod k použití

Zamýšlené použití

IMTEC-Vasculitis-LIA je nepřímá membránová enzymová imunoanalýza (LIA) pro kvalitativní měření protilátek třídy IgG proti PR3, MPO a GBM v lidském séru nebo plazmě. Test je určen pouze pro diagnostické použití in vitro jako pomůcka při diagnostice systémové vaskulitidy, tj. Wegenerovy granulomatózy a Goodpastureova syndromu.

Proteináza 3 (PR3) je hlavním cílem protilátek proti cytoplasmě neutrofilů (cANCA). Naproti tomu perinukleární ANCA (pANCA) reagují především s myeloperoxidázou (MPO).

cANCA úzce souvisí s Wegenerovou granulomatózou, která klasicky způsobuje těžkou glomerulonefritidu. Opakované vyšetření na cANCA má proto význam pro sledování aktivity onemocnění a účinku léčby.

PANCA, zjišťovaný nepřímou imunofluorescencí, lze kromě vaskulitidy nalézt také u řady dalších onemocnění. Z toho vyplývá, že detekce cANCA a pANCA pomocí nepřímé imunofluorescence není dostatečná k prokázání systémové nekrotizující vaskulitidy. Proto je nutné analyzovat „jemnou specifikaci“ PR3-ANCA a MPO-ANCA metodou ELISA jako druhý krok nebo paralelně.

Anti-GBM protilátky (protilátky proti bazální membráně) lze detekovat přibližně u 90 % pacientů s Goodpastureovým syndromem. Goodpastureův syndrom je sice poměrně vzácné onemocnění (0,5 % všech pacientů s onemocněním ledvin), ale rychle progreduje a pokud není léčen, je v 75-90 % případů smrtelný. Včasná diagnóza a okamžitá a správná léčba výrazně snižují letalitu.

Princip

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

antigeny	identita
PR3	původní
MPO	Původní
GBM	Původní

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 křenuvou 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 (fialové barevné označení) potažené antigenem (viz tabulka), připravené k použití
[DILxLIA]	30ml	Ředící pufr (modrý uzávěr), připravený k použití
DB02		
[WASH][20x]	50 ml	Promývací pufr (černý uzávěr) koncentrát (20x) pro 1 l pufru
WB03		
[CON]	29 ml	Roztok konjugátu (bílý uzávěr) konjugát anti-human-IgG, připravený k použití
[SUBxLIA]	30 ml	Roztok substrátu (černý uzávěr), připravený k použití bezbarvý až namodralý
[STOP[LIA]	30 ml	Stop roztok (červený uzávěr) kyselina sírová, připravená k použití 0,1 mol/l
	2 ks.	Inkubační misky
	1 ks.	každý bodovací list, pinzeta, lepicí list, průhledná
	each	hodnotící šablona

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 by měly být inaktivovány validovanými postupy (autoklávování 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] chráněné před světlem.

Bezpečnostní opatření

[DILxLIA] DB02, [WASH][20x] WB03 a [SUBxLIA] mohou být zaměněny mezi jednotlivými 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 odstraněna.

Během inkubace nevysušujte [STRIP].

Nedotýkejte se [STRIP] prsty, používejte pinzetu.

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

Během všech inkubačních kroků používejte houpací třepačku.

Vzorek, kontroly

Sérum a plazma s antikoagulanty citrátem nebo EDTA.

Nepoužívejte vysoce lipemické, hemolyzované nebo ikterické vzorky.

Neředěné vzorky lze skladovat po dobu 5 dnů při teplotě 2...8 °C 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.

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.

Promývací pufr [WASH]

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

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 kapaliny.

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 používejte houpací třepačku.	
Příprava vzorku: <u>DIL_{RIA} DB02: Vzorek naředte v poměru 1:101. (10 µl séra + 1 ml [DIL_{RIA}])</u> 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 vyperte 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	
[SUB _{RIA}]	1
Inkubujte 10 minut při pokojové teplotě	
Odstranit [SUB _{RIA}]	
5. krok	
Přidejte destilovanou vodu	1
Inkubujte 1 minutu při pokojové teplotě	
Odstraňte destilovanou vodu	
[STOP[LIA]	1
Inkubujte 5 minut při pokojové teplotě	
Odstranit [STOP[LIA]	
Důkladně osušte [STRIP]	

Automatizace

IMTEC-Vasculitis-LIA lze zpracovávat pomocí vhodných automatických analyzátorů Blot. Aplikace musí být před diagnostickým použitím validovány.

Pro automatizovanou interpretaci proužků LIA použijte HumaScan ([REF] ITC02850i).

Validace testu

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

- Kontrola funkce je viditelná.
- Kontrola cut-off je viditelná.
- Ovládání funkce intenzity > ovládání vypnutí intenzity

Interpretace výsledků

Připevněte [STRIP] na skórovací list a srovnajte referenční čáru [STRIP] s referenční čarou na skórovacím listu.

Zarovnejte přerušovanou referenční čáru hodnotící šablony s referenční čarou [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 pruh nebo pokud pruh vykazuje menší intenzitu ve srovnání s mezní kontrolou.

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 hladiny 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-82040.pdf nebo www.human-de.com/data/gb/vr/la-82040.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: správné nasazení uzávěrů na lahvičky a jejich pevné dotažení / ze zásobních roztoků odstraňte pouze činidla potřebná pro daný cyklus, pokud by mohla přijít do styku s jinými kontaminujícími roztoky, jako jsou vzorky pacientů atd. / Zásobní roztoky se vždy vrátí na teplotu 2...8 °C, pokud se nepoužívají.)

Barevné značení

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

Bezpečnostní poznámky

[STOP] Varování!

- 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. Vyměňte 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.

Odkazy:

- Conrad K. et al., Autoantibodies in Systemic Autoimmune Diseases - A Diagnostic Reference; Pabst Science Publishers, Lengerich, 2008.
- Hellmark T. et al., Kidney Int. 46, 823-829 (1994).

LA-82040

INF ITC82040 GB

10-2023-019

IMTEC

Human