

IMTEC-Arthritis-LIA

Line Immuno Assay (LIA) for the Detection of Antibodies in Arthritis

ACPA (CP4-1, CP4-2, CP4-3, CP4-4), RF-IgM, Ra33, dsDNA, SS-A/Ro 60, SS-A/Ro 52, SS-B/La

Velikost balení

[REF] ITC94000 24 Tests Kompletní balení testů
[IVD]

Před testováním si pečlivě přečtěte návod k použití.

Zamýšlené použití

IMTEC-Arthritis-LIA je IVD určený ke kvalitativní detekci 10 různých autoprotilátek v lidském séru a plazmě jako pomůcka při diagnostice revmatoidní artritidy. Test poskytuje dodatečnou diagnostickou jistotu a umožňuje snadnější rozpoznání typických překrývajících se jevů u autoimunitních onemocnění. Test je vhodný pro manuální nebo automatizovanou aplikaci v profesionální laboratoři.

Klinická hodnota

ACPA (protilátky proti citrulinovaným proteinům) a revmatoidní faktory jsou doporučeny v klasifikačních kritériích ACR/EULAR pro revmatoidní artritidu. ACPA mají nejvyšší specifitu pro diagnostiku časně RA. Ačkoli protilátky RF a Ra33 mají nižší diagnostickou specifitu, detekce kombinace těchto protilátek zvyšuje diagnostickou jistotu jednotlivých pacientů. Antinukleární protilátky jsou pozitivní zhruba u 30 % všech pacientů s revmatoidní artritidou. Protilátky proti SS-A/Ro a SS-B/La mohou indikovat přítomnost sekundárního Sjögrenova syndromu. dsDNA protilátky indikují přítomnost SLE nebo překrývání SLE/RA.

Princip

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

Antigens	Identity
IgG (anti IgM → RF-IgM detection)	původní, kozí
ACPA /CP4-1	syntetický
ACPA /CP4-2	Syntetický
ACPA /CP4-3	Syntetický
ACPA /CP4-4	Syntetický
RA33	rekombinantní
dsDNA	původní
SS-A/Ro 60	Původní
SS-A/Ro 52	Rekombinantní
SS-B/La	Rekombinantní

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). Revmatoidní faktory typu IgM se detekují pomocí metody μ -capture. Detekce se provádí pomocí biotinylovaného lidského IgG a streptavidinu-HRP. Po přidání substrátu a stop roztoku výskyt hnědých čar indikuje existenci (auto)protilátek proti příslušnému antigenu.

Obsah testu

[STRIP]	24	Testovací proužky potažené antigenem (viz tabulka), připravené k použití Barevný kód: Červená
[DIL[LIA]	30 ml	rthritis LIA Ředící pufr (modrý uzávěr) s IgG-Biotinem připravený k použití
[WASH]20x] WB03	50 ml	Promývací pufr (černý uzávěr) koncentrát (20x) pro 1 l pufu
[CON]	30 ml	Roztok konjugátu (bílý uzávěr) Konjugát streptavidin-HRP a anti-human-IgG HRP, připravený k použití.
[SUB[R[LIA]	30 ml	roztoku 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]	30 ml	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 hodnotící šablona
	each	

Stabilita

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

Rekonstituované [WASH] i otevřené [DIL[LIA] a [CON] jsou stabilní po dobu 6 týdnů při 2...8°C.

Uchovávejte [SUB[LIA] chráněně před světlem.

Bezpečnostní opatření

Nepoužité proužky musí být dobře uloženy v pečlivě uzavřených sáčcích.

[STOP], [WASH]20x]. WB03 a [SUB[LIA] lze zaměňovat 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 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 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.

Reagencie nezmrazujte.

Promývací pufr [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 návodu. Zvláštní pozornost věnujte postupu promývání!	
Reagencie a vzorky by měly mít před použitím pokojovou teplotu. Během všech inkubačních kroků používejte houpačí třepačku.	
Příprava vzorků: Vzorek naředte v poměru 1:101 s [DIL[LIA]. (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]	1
Inkubujte 1 minutu při pokojové teplotě	
Odstraňte [WASH]	
2. krok	
Zředěné vzorky	1
Inkubujte 30 min. při pokojové teplotě	
[WASH]	1
Tříkrát promyjte podle popisu (viz W1 - W3)	
3. krok	
[CON]	1
Inkubujte 30 min. při pokojové teplotě	
Tříkrát promyjte podle popisu (viz W1 - W3)	
[WASH]	1
4. krok	
[SUB[LIA]	1
Inkubujte 10 min. při pokojové teplotě	
Odstraňte [SUB[LIA]	
5. krok	
Přidejte destilovanou vodu	1
Inkubujte 1 min. při pokojové teplotě	
Odstraňte destilovanou vodu	
[STOP[LIA]	1
Inkubujte 5 min. při pokojové teplotě	
Odstraňte [STOP[LIA]	
Důkladně osušte [STRIP]	

Ověřování testů

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

- Funkce ovládaní je viditelná.
- Je viditelná kontrola vypnutí.
- Ovládaní funkce intenzity > ovládaní vypnutí intenzity

Interpretace výsledků

Připevněte [STRIP] na hodnotící list a srovnajte referenční čáru [STRIP] s referenční čárou na hodnotícím listu.

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

Výsledky testu se interpretují výhradně na základě hraniční kontroly příslušného [STRIP]:

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

Výsledek testu 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.

Zvláštní charakteristika interpretace ACPA

ACPA se skládá ze čtyř peptidů CP4-1, CP4-2, CP4-3 a CP4-4. Pozitivní výsledek jednoho z peptidů se považuje za pozitivní nálezy ACPA.

Automatizace

IMTEC-Arthritis-LIA lze zpracovávat pomocí vhodných automatických analyzátorů Blot. Aplikace musí být před diagnostickým použitím validovány. Pro plně automatické zpracování a interpretaci IMTEC-Arthritis-LIA použijte HumaBlot 44FA ([REF] ITC80000). Pro interpretaci manuálně zpracovaných proužků LIA použijte interpretační software HumaScan FA.

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 výkonnostní údaje lze nalézt ve zprávě o ověření, která je přístupná prostřednictvím:

www.human.de/data/gb/vr/la-94000.pdf nebo

www.human-de.com/data/gb/vr/la-94000.pdf

Pokud nejsou údaje o výkonu přístupné přes internet, lze je bezplatně získat od místního distributora.

Bezpečnostní poznámky

[STOP] Varování

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.

[STRIP] [DIL[LIA] [WASH]20x]. [CON] [SUB[LIA] [STOP[LIA]

P234 Uchovávejte pouze v původním obalu.

P281 Podle potřeby používejte osobní ochranné prostředky.

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

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

[DIL[LIA] [WASH]20x] [CON] [SUB[LIA] [STOP[LIA]

P260 Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/výpary/stříkance.

P262 Nevstupujte do očí, na kůži ani na oděv.

P303+P361+P353 PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo vlasy): Okamžitě svlékněte veškerý kontaminovaný oděv. Opláchněte pokožku vodou/sprchou.

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

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

Se všemi vzorky pacientů je třeba zacházet jako s potenciálně infekčními.

Všechny materiály ELISA z lidských zdrojů byly testovány na přítomnost protilátek HBsAg, HIV a HCV a bylo zjištěno, že nejsou reaktivní 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 zacházet jako s potenciálně infekčními.

Reference

Conrad K. et al., 2015; Autoantibodies in Systemic Autoimmune Diseases - A Diagnostic Reference; Pabst Science Publishers, Lengerich, Volume 2, third

edition. LA-94000 INF ITC94000 GB

09-2023-003