ANTI-Sm PROTILÁTKY

KÓD 44755 96 Testů
SKLADOVAT PŘI 2-8 ºC
Reagencie pro stanovení anti-Sm protilátek Pouze pro *in vitro* diagnostiku v klinických laboratořích.

ANTI-Sm PROTILÁTKY

ELISA
MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

PRINCIP METODY

Anti-Sm protilátky ze vzorku se váží na Sm antigen navázaný na povrchu mikrotitračních destiček. V průběhu druhé inkubace se váže konjugát (křenovou peroxidázou značené imunoglobuliny proti lidskému IgG) s protilátkami navázanými na povrchu jamky. Nakonec se přidává 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB) s H_2O_2 do každé jamky jako enzymový substrát. Vzniklá enzymatická barevná reakce je zastavena kyselinou. Žluté zabarvení reakce se měří při 450 nm a intenzita absorbance je úměrná koncentraci protilátek ve vzorku[1].

OBSAH A SLOŽENÍ

A. Koncentrovaný promývací roztok. 50 mL. Koncentrovaný fosfátový pufr, azid sodný 15 mmol/l.
B. Ředící roztok. 100 mL. Tris pufr, azid sodný 15 mmol/l.
C+. Pozitivní kontrola. 1,5 mL. Připravena k použití. Lidské sérum s Anti-Sm protilátkami.
C-. Negativní kontrola. 1,5 mL. Připravena k použití. Lidské sérum bez anti-Sm protilátek, azid sodný 15 mmol/L.
D. Konjugát. 15 mL. Křenovou peroxidázou značené polyklonální králičí imunoglobuliny proti lidskému IgG.
E. Substrát. 15 mL. 3,3,5,5'-tetramethylbenzidin (TMB).
F. Zastavovací roztok. 15 mL. Kyselina fosforečná 4,5 %.
NEBEZPEČÍ: H314: Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. P303+P361+P353: PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte.
M. Mikrotitrační destičky.12 modulů po 8 rozlamovatelných jamkách z nichž každá je potažena vysoce purifikovaným Sm.
S1-S6. Standardy. Každý po 1,5 mL. Připraveny k použití. Sérum s anti-Sm protilátkami, azid sodný 15 mmol/L. Koncentrace protilátek jsou: 0; 6,25; 12,5; 25; 50 a 100 U/ml, jak je uvedeno na štítku lahviček. Kalibrováno proti ANA lidskému referenčnímu seru AF/CDC5 z centra pro kontrolu onemocnění (CDC), Atlanta, USA.

Další varování a bezpečnostní opatření naleznete v bezpečnostním listu produktu (SDS).
Lidská séra použitá při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a shledána negativní na přítomnost protilátek anti-HIV a anti-HCV, a stejně tak na HBs antigen. Nicméně zacházejte s kontrolami jako s potencionálně infekčním materiálem.

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2-8 °C.
Reagencie jsou stabilní do data expirace uvedené na štítku, jestliže jsou skladovány uzavřené a je zabráněno kontaminaci v průběhu jejich užívání.
Známky zhoršení kvality:
- Kapalné komponenty: Přítomnost částic, zákal
- Mikrotitrační destičky: natržení sáčku, makroskopické defekty jako je poškrábání dna jamek.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Promývací pufr: Zřeďte koncentrovaný promývací pufr A destilovanou vodou v poměru 1/20. Pořádně promíchejte. Pro 1 strip se spotřebuje přibližně 50 ml promývací reagencie. Roztok je stabilní 30 dnů při 2-8 °C.
Ostatní činidla jsou připravena k přímému použití.

DOPLŇUJÍCÍ VYBAVENÍ

- zvlhčovací komůrka
- promývací zařízení pro mikrotitrační destičky
- reader nebo fotometr s mikrokyvetou a filtrem 450 ± 10 nm.

VZORKY

Sérum nebo plazma odebraná standardním způsobem. Vzorek před testováním zřeďte 1/100 ředícím pufrem (B). Pro stanovení používejte vždy čerstvá ředění vzorků.

PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte všechna činidla na pokojovou teplotu. (Poznámka 1).
2. Otevřete balíček s mikrotitračními destičkami a vyjměte požadované množství pro stanovení (Poznámka 2).
3. **Postup práce:**
   Kvantitativní stanovení: Pipetujte po 100 µL každého standardu (S1-S6), Pozitivní kontroly (C+), Negativní kontroly (C-) a zředěného vzorku do odlišných jamek.
   Kvalitativní stanovení: Pipetujte 100 µL Standardu S3, Pozitivní kontroly (C+), Negativní kontroly (C-), a zředěného vzorku do odlišných jamek. Pipetujte 100 µL ředícího roztoku (B) jako blank.
4. Stripy umístěte do zvlhčovací komůrky a inkubujte je při pokojové teplotě po dobu 30 minut.
5. Odsajte obsahy jamek a jamky promyjte 3krát po 300 µL promývacího pufru vždy po dobu nejméně 10 sekund (Poznámka 3 a 4).
6. Pipetujte do všech jamek 100 µL konjugátu (D).
7. Stripy inkubujte ve zvlhčovací komůrce při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
8. Promyjte jamky podle odstavce č. 5.
9. Pipetujte 100 µL substrátu € do všech jamek.
10. Stripy inkubujte ve zvlhčovací komůrce při pokojové teplotě po dobu 15 minut.
11. Pipetujte 100 µL zastavovacího roztoku (F) do všech jamek a inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5 minut. (Poznámka 5).
12. Odečtěte absorbanci jednotlivých jamek při 450 nm za použití S1 standardu nebo jamky blanku pro vynulování přístroje. Zbarvení je stabilní po dobu nejméně 30 minut.

VÝPOČET

Kvantitativní stanovení: Vyneste do grafu hodnoty absorbancí pro každý standard proti koncentraci anti-Sm protilátek (U/mL). Koncentrace anti-Sm protilátek přítomných ve vzorku se vypočítá interpolací absorbance na kalibrační křivce (doporučená křivka: 4parametrická logistická).

Kvalitativní stanovení: Vypočtěte absorbanci Cut-off následovně:

$$A_{450\ nm}\ \text{Cut-off} = A_{450nm}\ \text{S3} \times 0{,}8$$

Hodnota faktoru (F) je 0,8 a je vztažena k teoretické cut-off hodnotě standardu S3.
Vypočtěte absorbanční poměr:

$$\text{Absorbanční poměr} = \frac{A_{450\ nm}\ \text{Vzorku}}{A_{450\ nm}\ \text{Cut-off}}$$

BioSystems S.A. Costa Brava, 30. 08030 Barcelona (Spain)
Quality System certified according to EN ISO 13485 and EN ISO 9001 standards
revize českého překladu 04/2025/VS

ANTI-Sm PROTILÁTKY

KÓD 44755 96 Testů
SKLADOVAT PŘI 2-8 ºC
Reagencie pro stanovení anti-Sm protilátek Pouze pro *in vitro* diagnostiku v klinických laboratořích.

ANTI-Sm PROTILÁTKY

ELISA
MIKROTITRAČNÍ DESTIČKY

Když jsou hodnoty absorbancí vyšší, než je horní měřící limit readeru, vzorky nařeďte reagencií (B) a stanovení opakujte.

REFERENČNÍ HODNOTY

Vzorky, s koncentrací větší než 12,5 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr vyšší jak 1,0 jsou považovány za pozitivní.
Vzorky, s koncentrací nižší než 7,5 U/mL, nebo které mají absorbanční poměr nižší jak 1,0 jsou považovány za negativní.
Vzorky, které mají absorbanční poměr mezi 7,5-12,5 jsou považovány za nejasné a doporučuje se opakování analýzy. Zvažte jiné testování pro diferenciální diagnózu.
Uvedené hodnoty jsou pouze orientační. Každá laboratoř by si měla stanovit svá vlastní rozmezí.

KONTROLA KVALITY

Absorbance standardu S6 by měla být vyšší jak 1,300.
Koncentrace Pozitivní kontroly (C+) by měla být v rozmezí od 15 do 25 U/mL a Negativní kontroly (C-) by měla být nižší jak 7,0 U/mL.
Absorbanční poměr pro Negativní kontrolu (C-) by měl být nižší než 1,0.
Každá laboratoř by si měla stanovit svojí vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

– Opakovatelnost (jednoho vzorku):

U/ml	CV %	n
25,7	2,1	24
42,4	1,0	24
78,6	1,3	24

– Reprodukovatelnost (run to run):

U/ml	CV %	n
25,7	2,7	30
42,4	1,3	30
78,6	0,7	30

– Detekční limit: 0,5 U/mL
– Anti-Sm test je specifický pouze k protilátkám proti Sm. Nebyly pozorovány žádné zkřížené reakce k jiným ENA autoantigenům.
- Interference: Hemoglobin do 1000 mg/dL, bilirubin do 40 mg/dL a triglyceridy do 3000 mg/dL neinterferují. Nebyly zaznamenány interference používaných antikoagulantů. Některé druhy léků a dalších látek mohou interferovat[2].
- Rozsah měření: 0,5-100 U/mL. Jestliže získáte vyšší hodnoty, zřeďte vzorek ředícím pufrem (B) a zopakujte stanovení.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Přítomnost vysokých hladin protilátek specifických k Sm silně indikuje systémový lupus erythematodes Tyto protilátky lze nalézt přibližně u 20-30 % pacientů s diagnózou SLE[3,4].
Senzitivita pro SLE byla pro BioSystems soupravu anti – Sm protilátek ve studii se 190 klinickými vzorky stanovena na 51,4 % a specifita na 95,8 %. Podrobnosti studie jsou dostupné na vyžádání.
Klinická diagnóza by neměla být stanovena jen na základě výsledku jednoho testu, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní údaje.

POZNÁMKY

1. Nezaměňujte reagencie ze souprav různých šarží.
2. Skladujte nepoužité jamky v plastikovém sáčku a uzavřete je společně s vysoušecím sáčkem.
3. Nepoškoďte vnitřní povrch mikrotitračních destiček.
4. Promývací roztok by měl být kompletně odstraněn z jamek.
5. Zastavovací roztok (F) enzymové reakce musí být pipetován do jamek přibližně ve stejném časovém odstupu jako substrát (E) v odstavci č.9. pracovního postupu.

LITERATURA

1. Butler JE. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. In: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
3. Peng SL and Craft JE. Spliceosomal snRNPs autoantibodies. In: James B. Peter and Yehuda Shoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.
4. Bernstein R. Autoantibodies to histones, Sm and ubiquitins. In: van Venrooij WJ and Maini RN eds. Manual of Biological Markers of Diseases. Kluwer Academic Publishers, 1996.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 15.4. 2025
Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí.
Originální návod, LOT certifikát a bezpečnostní listy jsou k dispozici na internetové adrese: https://einfo.bio a na: www.jktrading.cz

Výhradní distributor:
ČR: JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5,150 21 Praha 5,
tel.: +420 257 220 760, praha@jktrading.cz
SK: JK-Trading spol.s.r.o., Dlhá 43, 900 31 Stupava,
tel.: + 421 264 774 591, jk-trading@jk-trading.sk

V případě mimořádných událostí:
ČR: Toxikologické informační středisko (TIS), klinika pracovního lékařství VFN a LF UK,
tel.: +420 224 91 92 93 a +420 224 91 54 02
SK: Toxikologické informačné centrum Bratislava, 833 05,
Limbová 5, tel.: +421 254 774 166