

INNO-LIA ANA Update



Výrobce:

Fujirebio Europe N.V.
Technologiepark 6
9052 Gent
Belgium
☎. +32 9 329 13 29
BTW BE 0427.550.660
RPR Gent

Distribuce v ČR:

Asco-Med spol. s r.o
☎ + 420 233 313 578
e-mail: asco@ascomed.cz



eifu.fujirebio.com/FRE/all/?keycode=FRI25124

☎ +800 135 79 135 / +31 20 794 7071

8:00 - 17:00 GMT+1

M	T	W	T	F	S	S
☒	☒	☒	☒	☒	☐	☐

OBSAH:

Použité symboly	2
Účel použití	3
Princip testu	3
Reagencie	4
Materiály požadované, avšak nedodávané	6
Varování a opatření	6
Odběr vzorků, manipulace a skladování	8
Postup přípravy a manipulace	8
Pracovní postup pro manuální provedení	9
Pracovní postup pro automatizované provedení	11
Omezení postupu	11
Parametry testu	13
Odkazy	15
Ochranné známky	15

Použité symboly

Manufacturer

Výrobce

*In vitro* diagnostic medical device*In vitro* diagnostický zdravotnický prostředek

Batch code

šarže



Catalogue number

Katalogové číslo



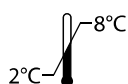
Use by

Použitelné do



Consult instructions for use

Viz návod k použití



Temperature limitation

Teplotní omezení



Contains sufficient for <n> tests

Stačí pro <n> testů



Biological risks

Biologické riziko



Line ImmunoAssay

STRIPS	Strips	Stripy
CONJ 100x	Conjugate 100x	Konjugát 100x
CONJ DIL	Conjugate diluent	Diluent konjugátu
CONTROL CO	Cut-off control	Kontrola cut-off
SAMP DIL	Sample diluent	Diluent vzorku
STOP SOLN	Stop solution	Zastavovací roztok
SUBS BCIP/NBT 100x	Substrate BCIP/NBT 100x	Substrát BCIP/NBT
SUBS BUF	Substrate buffer	Substrátový pufr
WASH SOLN 5x	Wash solution 5x	Promývací roztok 5x
DANGER	Danger	Nebezpečí

Účel použití

INNO-LIA-ANA Update je kvalitativní "line immunoassay" k průkazu a identifikaci třinácti antinukleárních protilátek (ANA) v lidském séru k podpoře diagnóz onemocnění pojivových tkání.

INNO-LIA-ANA Update jednotlivě detekuje protilátky proti následujícím nukleárním antigenům: tyto nukleární antigeny: Sm (SmB a SmD), RNP (RNP-70k, RNP-A, RNP-C), SSA (Ro52, a Ro60) SSB/La, centromeru (Cenp-B), Scl-70 (DNA topoizomeráza I), Jo-1, ribozomální P a histony. Test lze provádět manuálně nebo pomocí automatu.

Zamýšlený uživatel:

Laboratorní pracovník nebo vědec v klinické nebo výzkumné laboratoři s odpovídajícími laboratorními zkušenostmi a dobře proškolený v metodách enzymové imunoanalýzy.

Princip testu:

Rekombinantní antigeny (SmB, RNP-70k, RNP-A, RNP-C, Ro52, SSB/La, Cenp-B, Topo-I, Jo-1), syntetické peptidy (SmD a ribozomální P) a přírodní proteiny (Ro60 a histony) jsou navázány v samostatných oddělených liniích na nylonové membráně s plastickou výztuží. Kromě těchto autoantigenů je na stripech navázána i kontrola.

INNO-LIA-ANA Update je založena na principu enzymové imunoanalýzy. Vyšetřovaný vzorek je inkubován v jednom žlábků se stripem s navázanými autoantigeny. Jsou-li ve vzorku přítomny autoprottilátky, váží se specificky k odpovídajícím autoantigenům na stripu. V dalších krocích je přidána kozí protilátka proti lidskému IgG konjugovaná s alkalickou fosfatázou. Jsou-li vytvořeny autoantigen-autoprottilátkové komplexy, konjugát se na ně váže. Další inkubace s chromogenem BCIP/NBT (5-bromo-4-chloro-3-indolyl fosfát/nitroblue tetrazolium v dimethylformamidu) vede ke vzniku tmavě hnědého zabarvení, které odpovídá množství autoprottilátek ve vyšetřeném vzorku. Reakce je ukončena přidáním kyseliny sírové.

Neobsahuje-li vzorek specifické autoprotilátky, značené protilátky proti lidskému IgG se nemohou navázat na komplex antigen/autoprotilátky na stripu se vybarví pouze kontrolní linie a slabé pozadí.

Reagencie:

Popis, příprava pro použití a doporučené skladovací podmínky

- Skladované v původních obalech a při 2-8°C jsou reagencie stálé až do data expirace soupravy. Nepoužívejte reagencie po datu expirace. Reagencie nezmrazujte.
- Všechny reagencie a zkumavka se stripy musí být vytemperovány na teplotu místnosti (15-25 °C) asi 60 minut před použitím a po použití by měly být ihned vráceny do lednice (2-8°C). Pokus se s nimi manipuluje správně, udří se kvalita až do data expirace.
- Změny fyzického vzhledu složek soupravy mohou ukazovat na nestabilitu nebo rozklad.
- Souprava je určena k provedení 20 testů.

Dodávané reagencie:

<u>Složka</u>	<u>Množství</u>	<u>Ref.</u>	<u>Popis</u>															
Strips	20ml	55997	Obsahuje 20 20 INNO-LIA ANA Update stripů koatovaných antigenem															
Sample diluent	60 ml	55710	Fosfátový pufr obsahující chlorid sodný. detergent hovězí proteinové stabilizátory a 0,1% azid sodný jako konzervační látku.															
Conjugate 100x	0,6 ml	55657	Kozí anti-humánní IgG značený alkalickou fosfatázou v Tris pufru obsahujícím hovězí proteinové stabilizátory a 0,1% azid sodný jako konzervační látku. Před použitím se ředí 100x diluentem konjugátu. Pracovní roztok konjugátu je stabilní po dobu 18 hodin. při pokojové teplotě (15 °C až 25 °C), pokud je uchováván v chladničce. ve tmě.															
			<table border="1"> <thead> <tr> <th>Počet stripů</th> <th>5</th> <th>10</th> <th>15</th> <th>20</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Konjugát (ml)</td> <td>0,12</td> <td>0,22</td> <td>0,32</td> <td>0,42</td> </tr> <tr> <td>Roztok k ředění konjugátu (ml)</td> <td>12</td> <td>22</td> <td>32</td> <td>42</td> </tr> </tbody> </table>	Počet stripů	5	10	15	20	Konjugát (ml)	0,12	0,22	0,32	0,42	Roztok k ředění konjugátu (ml)	12	22	32	42
Počet stripů	5	10	15	20														
Konjugát (ml)	0,12	0,22	0,32	0,42														
Roztok k ředění konjugátu (ml)	12	22	32	42														
Conjugate diluent	60 ml	55675	Fosfátový pufr obsahující chlorid sodný. detergent hovězí proteinové stabilizátory a 0,1% azid sodný jako konzervační látku.															

Složka	Množství	Ref.	Popis
Cut-off control Mezní kontrola	8,5 ml	55998	Směs lidské plazmy (každá obsahuje protilátky proti jednomu nebo více autoantigenům, a normální lidské sérum). Předem zředěná 1/100 v diluentu vzorku, obsahujícím aprotinin jako inhibitor proteáz. a 0,1% azid sodný jako konzervační látku.
Substrate BCIP/NBT 100x	0,6 ml	55721	5-bromo-4-chlor-3-indolylfosfát/nitroblue 100x tetrazolium v dimethylformamidu, před použitím je třeba zředit 100x v substrátovém pufru. Pracovní roztok substrátu je stabilní po dobu 18 hodin. při pokojové teplotě (15 °C až 25 °C), pokud je skladován v ve tmě.

Počet stripů	5	10	15	20
Substrát (ml)	0,12	0,22	0,32	0,42
Roztok k ředění substrátu.(ml)	12	22	32	42

Substrate buffer	120 ml	55735	Tris pufr obsahující hovězí proteinové stabilizátory a 0,1% azid sodný jako konzervační látku.
Stop solution	60 ml	55712	0,1 mol/l kyselina sírová
Wash Solution 5x	80 ml	55745	Fosfátový pufr obsahující chlorid sodný, detergent a 0,5% azid sodný jako konzervační látku. Má se ředit 5x v destilované nebo deionizované vodou. Zředěný promývací roztok je stabilní po dobu 2 týdnů, pokud je uchovávan při teplotě 2 °C až 8 °C.

Počet stripů	5	10	15	20
Promývací roztok (ml)	12	24	36	49
Destilovaná voda (ml)	48	96	144	192

Incubation tray	3	-	Každý rámeček s 8 žlábký.
Data reporting sheet	1	-	Pro skladování vyvinutých stripů.
Reading card	1		Pro identifikaci reakčních linií.

Materiály potřebné, ale nedodávané:

- Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- Nastavitelné pipety s jednorázovými špičkami pro dávkování 10 - 20 µl 20 - 200 µl a 200 - 1000 µl.
- Odměrné válce (10, 25, 50 a 100 ml).
- Mixer typu "VORTEX" nebo podobný.
- Mikrocentrifuga.
- Pinzeta pro manipulaci se stripy.
- Jednorázové rukavice.
- Volitelné:
 - Časovač
 - Vakuové odsávání s 5% roztokem chlornanu sodného
 - Dávkovací multipipeta (Eppendorf nebo podobná)
 - Zkumavky na jedno použití pro přípravu pracovních ředění konjugátu a substrátu.
 - Orbitální nebo výkyvná třepačka (viz“Pokyny pro inkubaci“.).

Doporučení:**Pro orbitální třepačku:**

- Průměr kruhového pohybu roven nebo větší než 13 mm
- Doporučená rychlost pro 13 mm kruhový pohyb je 160 rpm
- Doporučená rychlost pro 13 mm kruhový pohyb je 90 rpm

Pro kyvnou třepačku:

- Úhel by neměl překročit 9° aby se zabránilo rozstříknutí kapaliny
- Doporučená rychlost je 34 rpm.

Varování a upozornění**Zdraví, bezpečí a životní prostředí:**

Prostudujte, prosím, bezpečnostní listy a popisky obalů ingrediencí pro informace o potenciálně nebezpečných složkách. Nejnovější veze bezpečnostních listů (safety data sheets" ," SDS") jsou dostupné na webových stránkách: www.fujirebio.com.

Nebezpečí

SUBS BCIP/NBT 100x

Obsahuje N,N-Dimethylformamide, 5,5'-diphenyl-3,3'-bis (4-nitrophenyl)-2,2'-(3,3'-dimethoxybiphenyl-4,4'-ylene)ditetrazolium dichloride a metanol:

H312+H332 H319 H360D P201 P261 P280

P303+P361+P353 P305+P351+P338 P308+P313

WASH SOLN 5x

H412 EUH032 P273

SUBS BUF

EUH032 EUH210

CONJ 100x

CONJ DIL

SAMP DIL

EUH032

STOP SOLN

EUH210

CONTROL	CO
---------	----

P280 P261 P362+P364

Bezpečnostní věty:

H312+H332	škodlivý při kontaktu s kůží a při vdechnutí
H319	Způsobuje vážné poškození očí
H360D	Může poškodit nenarozené dítě
H412	Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobým vlivem
EUH032	Při styku s kyselinami tvoří velice toxický plyn
EUH210	Bezpečnostní listy dostupné na vyžádání

Preventivní opatření:

P201	Před použitím prostudujte návod / zvláštní instrukce
P261	Zabraňte vdechování mlhy / páry / spreje
P273	Zabraňte průniku do životního prostředí
P280	Noste ochranné rukavice / plášť / brýle / obličejovou masku
P303+P361+P353	PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou [nebo osprchujte]
P305+351+P338	V OČÍCH: Oplachujte několik minut vodou, Nosíte-li, odstraňte kontaktní čočky, Pokračujte v omývání vodou.
P308+P313	V případě, že dojde ke kontaminaci, vyhledejte lékaře
P362+P364	Sundejte kontaminovaný oděv a před dalším použitím vyperte.

- Provádět test by měla pouze dobře proškolená osoba.
- Používejte osobní ochranné pomůcky: rukavice, brýle, pracovní oděv při práci s nebezpečným nebo infekčním materiálem.
- V případě potřeby přijměte bezpečnostní opatření týkající se látek CMR v souladu s předpisy platnými předpisy o ochraně zdraví při práci zaměstnanců obecně a mladých pracovníků. a zejména těhotných a kojících pracovnic.
- Se vzorky a cut-off kontrolou by se mělo vždy zacházet jako s potenciálně infekčními. Proto všechny krevní složky nebo biologické materiály a jakékoli jiné kontaminované jednorázové materiály nebo činidla by měly být považovány za potenciálně infekční. a jako s takovými by s nimi mělo být nakládáno.
- Bylo zjištěno, že kontrola cut-off je negativní na anti-HIV-1/HIV-2, anti-HCV a HBsAg. Nicméně žádná testovací metoda nemůže poskytnout úplnou jistotu, že produkty z lidské krve nepřenášejí infekční agens.
- Se všemi (potenciálně) infekčními materiály je třeba zacházet a likvidovat je v souladu se zavedenými bezpečnostními postupy a platnými předpisy.
 - o Autoklávování po dobu nejméně 15 minut při teplotě 121 °C.
 - o Materiál na jedno použití spalte.
 - o Smíchejte tekutý odpad s chlornanem sodným tak, aby konečná koncentrace byla ± 1 % chlornanu sodného. Před likvidací nechte stát přes UPOZORNĚNÍ:

Před přidáním chlornanu sodného neutralizujte tekutý odpad, který obsahuje kyseliny.

- Zlikvidujte všechna použitá nebo zbytková činidla a všechny ostatní kontaminované jednorázové prostředky. materiálů v souladu s platnými předpisy pracoviště o likvidaci odpadů. Je na zodpovědnost každé laboratoře nakládat s tekutým a pevným odpadem na základě jejich povahy a nebezpečnosti. Současně je třeba dodržovat všechna lokální a státní nařízení.

Shrnutí bezpečnosti a výkonnosti (SSP)

- Souhrn bezpečnosti a výkonnosti naleznete na následujícím místě (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>) po spuštění evropské databáze o zdravotnických prostředcích (EUDAMED).
- Obráťte se na společnost Fujirebio Europe N.V. a regulační orgán příslušného státu do 24 hodin v případě, že došlo k závažnému incidentu.

Analytická opatření

- Nemíchejte reagenty z různých souprav, pokud komponenty nemají identickou šarži. čísla šarží.
- Nepoužívejte opakovaně jednorázový laboratorní materiál.
- Zabraňte mikrobiální kontaminaci činidel a vzorků.
- Před použitím se ujistěte, že vzorky a kontroly jsou homogenní.
- Pro každý vzorek použijte novou pipetovací špičku.
- Při manipulaci se stripy používejte jednorázové rukavice a kleště.
- Všechny nádoby používané k přípravě roztoků konjugátů a substrátů musí být důkladně vyčištěné, aby nedošlo ke kontaminaci těchto roztoků.

. Odběr vzorku, manipulace a skladování:

- Test INNO-LIA ANA Update je určen pro vzorky lidského séra.
- Ředění reaktivních vzorků by měla být připravena v normálním lidském séru.
- Heparinovaná plasma způsobuje chybné výsledky anti-histonových protilátek - neměla by být tudíž používána.
- Nevyšetřujte lipemické, hemolytické nebo mikrobiálně kontaminované vzorky, mohou vykazovat chybné výsledky.
- Vzorky uchovávejte při 2-8°C. Pro uskladnění delší než jeden týden zmrazte alikvoty vzorků a uložte při teplotě -20°C a nižší.

Postup přípravy a manipulace

Manipulace se stripy

- Stripy jsou určeny pro jedno použití.
- Nedotýkejte se membrány stripů holýma rukama. Při manipulaci využívejte zadní plastové strany stripu, manipulujte nejlépe pomocí kleští.
- Umístěte testovací stripy do žlábků stranou s potaženou membránou nahoru (touto stranou je označena).
- Protřepávání roztoků nad proužky je důležité pro dosažení rovnoměrné linie obarvení a maximální citlivosti. Povrch proužků by měl být zcela ponořen v roztoku.

- Nepoužité a vyvolané proužky by se měly uchovávat mimo dosah silného světla a tepla.
- Vyvolané proužky nechte před interpretací, zakrytím a skladováním zcela vyschnout.
- Při přidávání vzorků do žlábků neotvírejte lahvičky se vzorky nad žlábkem s diluentem vzorku, aby nedošlo ke kontaminaci.
- Pracujte "hygienicky": vyvarujte se kýchnutí a kašlání v blízkosti proužků.
- Nepokládejte papír na proužky, dokud jsou mokré.
- Přestřížení proužků povede k chybné interpretaci výsledků.
- Vyvolané suché proužky skladujte nejlépe ve tmě při pokojové teplotě (20 °C až 25 °C).
- Žlábky nepoužívejte opakovaně.

Manuální postup testování

Pokyny pro manuální testování:

Před prováděním testu prosím čtěte „Analytická opatření“ a „Manipulace se stripy“. Před použitím nechte všechny testovací materiál dosáhnout pokojové teploty 15°C až 25°C.

1. Připravte do rámečku potřebný počet inkubačních žlábků. Mějte na paměti, že pro každý běh má být zařazena "cut-off kontrola". Během testování zůstávají žlábky v rámečku. Žlábky mohou být na jednom konci označeny pro lepší identifikaci.
2. Do každého žlábku přidejte **2 ml roztoku na ředění vzorků** (SAMPL. DIL.).
POZOR: Nepipetujte roztok na ředění vzorků do žlábku pro "cut-off kontrolu" - ta je již předředěná.
3. Přidejte **10µl vzorku nebo 2 ml cut-off kontrol** do odpovídajících žlábků. Pro správnou identifikaci zapište vzorky ve správném pořadí na výsledkový formulář. Vyjměte potřebný počet LIA stripů a přidejte po jednom do každého testovaného žlábku/vzorku. Stripy umístěte lícovou stranou vzhůru pomocí pinzety (čísla stripů na plastové výztuži budou čitelná).

STRIPY MUSÍ BÝT ZCELA PONOŘENY.

Inkubujte 1 hodinu +/- 5 min. při laboratorní teplotě na kyvné nebo orbitální třepačce (viz odstavec "Pokyny pro inkubaci"). Před koncem inkubace připravte pracovní ředění konjugátu (viz odstavec "Reagencie").

4. **Odsajte** kapalinu (viz odstavec "Pokyny pro promývání").
5. **Promyjte** každý strip **3x promývacím roztokem** (viz „Pokyny pro promývání“).
6. Přidejte **2 ml pracovního ředění konjugátu** do každého žlábku.
Inkubujte 30 min. (+/- 5 min.) na shakeru nebo rokeru při teplotě místnosti (15-25°C) (viz. "Pokyny pro inkubaci"). Před koncem inkubace připravte pracovní ředění substrátu (viz odstavec "Reagencie").
7. **Odsajte** kapalinu (viz odst. „Pokyny pro promývání“).
8. **Promyjte** každý strip **2x promývacím roztokem** (viz odst. „Pokyny pro promývání“) a **1x pufrem k ředění substrátu** (SUBS. BUF.) (viz. „Pokyny pro promývání“).
9. Přidejte **2 ml pracovního ředění substrátu** do každého žlábku.

Inkubujte 30 min. (+/- 5 min.) na shakeru nebo rokeru při laboratorní teplotě (15-25°C).

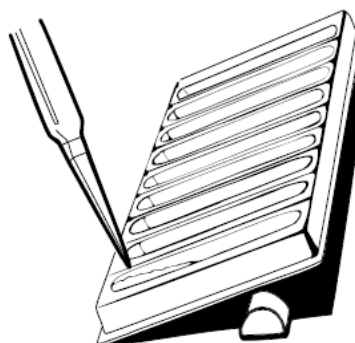
10. Odsajte kapalinu podle dříve popsaného postupu.
11. Přidejte **2 ml roztoku k zastavení reakce** (STOP SOLN.) do všech žlábků. Inkubujte 10 až 30 min. při laboratorní teplotě na shakeru nebo rokeru (viz odst. „Pokyny pro inkubaci“).
12. **Odsajte** kapalinu (viz odst. „Pokyny pro promývání“).
13. **Vyjměte** stripy ze žlábků a položte je rubovou stranou dolů na savý papír pomocí pinzet. **Interpretujte** výsledky, jakmile stripy dokonale **vyschnou**. Vyschnutí lze urychlit umístěním stripů do suchého inkubátoru na 30 min. Suché stripy fixujte na formulář pro interpretaci výsledků (lepící páskou přilepte pouze stripy za plastovou výztuhu/podložku nepřelepujte membránu stripů.

Pokyny pro promývání:

- Rámeček se žlábký držte nakloněn pod mírným úhlem tak, aby kapalina stekla ke konci žlábků, kde jsou stripy ukončeny přesahem výztuhy. (viz obr.) a odsajte kapalinu pipetou, nejlépe pomocí vakuové odsávačky.
- Přidejte 2 ml promývacího roztoku (viz odst. „Reagencie“) nebo pufru k ředění substrátu (poslední krok po inkubaci s konjugátem) do všech žlábků a 3 min. +/- 30 sec. Pohybujte žlábký na orbitální nebo kyvné třepačce.
- Odsajte kapalinu stejným způsobem jako dříve (žlábký pod úhlem). Dbejte, aby kapalina byla důkladně odsáta.
- Opakujte tento krok tolikrát, kolikrát je popsáno v pracovním postupu.

UPOZORNĚNÍ:

- Nedopusťte vyschnutí stripů během promývání.
- Dbejte toho, aby při odsávání nedošlo k poškození membrány stripů.
- Používejte vždy čisté odsávací zařízení.
- Dbejte toho, aby stripy byly vždy při promývání zcela ponořeny do kapaliny.
- Nastavte rychlost pohybu třepání na třepačce (dle "Pokynů pro inkubaci").



Obr. 1 Odsávání kapaliny ze žlábků

Pokyny pro inkubaci:

- Rychlost pohybu třepačky je kritická pro získání jasných linií a maximální citlivosti testu.
- Všechny inkubační kroky (vzorky, konjugát, substrát a kyselina sírová) a stejně tak promývací kroky musí být provedeny třepačce.
- Během inkubačních a promývacích kroků musí být stripy zcela ponořeny do kapaliny rubovou stranou (stranou s plastovou výztuhou) dolů.
- Pohyb třepačky musí zajistit pohyb stripů ve žlábků současně s pohybem kapaliny přelévající stripy, aniž však dojde k přelítí do sousedních žlábků.

Pracovní postup pro automatizované provedení testu:

Pro automatizované zpracování INNO-LIA ANA Update stripů lze použít následující přístroje: TENDIGO, Auto-LiA 48, Auto-LiA II a Autoblot 3000. Související protokoly jsou k dispozici u společnosti Fujirebio Europe N.V. Pro informace o těchto protokolech kontaktujte společnost Fujirebio Europe N.V. instalační postupy nebo příručku k přístroji (viz <https://www.fujirebio.com/en/resource-center/automated-test-procedures>). Lze použít i jiná automatizační řešení, ale vyžadují interní validaci testu před použitím v rutinním testování.

Výsledky:

Odečítání

Control line	SmB	SmD	RNP-70k	RNP-A	RNP-C	SSA/Ro52	SSA/Ro60	SSB/La	Cenp-B	Topo-I/Scl-70	Jo-1/HRS	Ribosomal P	Histones
--------------	-----	-----	---------	-------	-------	----------	----------	--------	--------	---------------	----------	-------------	----------



Obrázek 2 – INNO-LIA ANA Update strip

Validace:

- Prvá linie na očíslované straně stripu je kontrola přidání vzorku. Její intenzita by měla být vysoká.
- Stripy s vysokým barevným pozadím nemohou být interpretovány.
- V každém běhu testování musí být zařazena "cut-off" kontrola. Všechny linie stripu s "cut-off" kontrolou musí být zřetelně viditelné.

Interpretace výsledků

Pro usnadnění interpretace je k soupravě přiložena interpretační šablona/karta. Po přiložení kontrolní linie šablony ke kontrolní linii suchého stripu se výsledek snadno odečte.

Při odečítání se porovnávají intenzity zbarvení jednotlivých linií s odpovídajícími liniemi na stripu s "cut-off" kontrolou. Připevněním stripu cut-off na kartu si také usnadníte odečítání.

Strip pacienta může být interpretován pouze tehdy, má-li jeho kontrolní linie stejnou intenzitu jako kontrolní linie stripu s "cut-off" kontrolou.

Negativní výsledky:

Negativní:

Vzorek je negativní ve všech parametrech, jsou-li intenzity všech linií slabší než referenční linie stripu s "cut-off" kontrolou, ale nikoliv stejné intenzity. Příklad je znázorněn na obr. 3

Neurčitý:

Výsledek je neurčitý pro určitý marker, je-li intenzita odpovídající linie stejná jako intenzita příslušné referenční linie na stripu s "cut-off" kontrolou nebo nižší, ale nepochybně viditelnou intenzitou. (viz obr. 3)

Interpretace:

- Výsledek je **neurčitý pro SSB/La,Cenp-B,Sci-70,Jo-1,ribosomal P a histony** je-li intenzita odpovídající linie neurčitá.
- Výsledek je **neurčitý („ekvivokální“) pro Sm**, je-li SmD linie neurčitá.
- Výsledek je **neurčitý pro RNP**, jsou-li alespoň 2 linie ze 3 RNP linií neurčité nebo jedna z RNP linií pozitivní a jedna nebo obě další neurčité.
- Výsledek je **neurčitý pro SSA**, je-li jedna z linií SSA neurčitá a druhá negativní nebo jsou-li obě neurčité.

Vzorky s neurčitým výsledkem jsou považovány za hraničně negativní. Je doporučeno další sledování těchto pacientů.

Pozitivní výsledky:

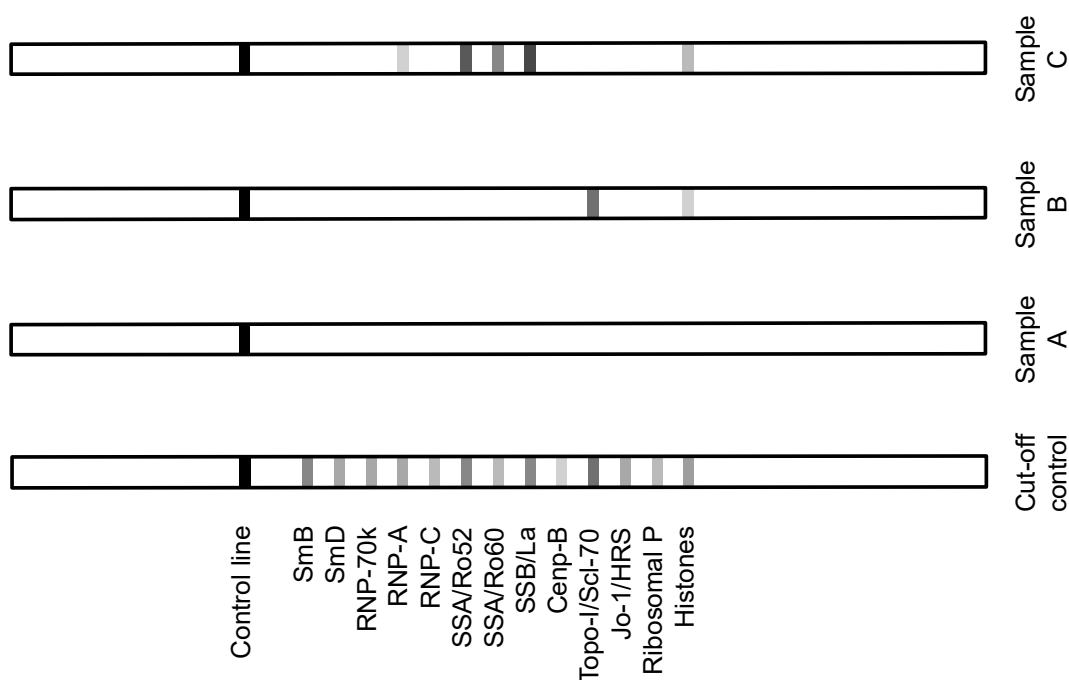
Pozitivní:

Výsledek testu je pro určitý marker pozitivní, je-li intenzita odpovídající linie vyšší, než intenzita referenční linie na stripu s "cut-off" kontrolou. Viz obr. 3.

Interpretace:

- Výsledek pro **SSB/La,Cenp-B, Sci-7, Jo-1, ribosomal P, nebo histony pozitivní**, je-li intenzita odpovídající linie pozitivní.
- Výsledek je **pozitivní pro Sm**, je-li SmD linie pozitivní. *
- Výsledek je **pozitivní pro RNP** jsou-li alespoň dvě ze tří linií pozitivní.
- Výsledek je **pozitivní pro SSA**, je-li alespoň jedna z SSA linií pozitivní.

* Van Venrooij WJ, et al, The consensus workshops for the detection of autoantibodies to intracellular antigens in rheumatic diseases. J Immunol Methods 1991; 140: 181-189. "Since antibodies against B/B proteins are often found in non-Sm sera (mostly via crossreaction) the presence of anti-D antibodies is indicative for anti-Sm".



Obr.3 Vzorek A je negativní pro všechny markery; vzorek B je neurčitý pro SCL-70; vzorek C je pozitivní SSA (obě jinye pozitivní a SSB/La, ale negativní pro ostatní linie).

Interpretace pomocí software LIRAS for LIA-ANA

LiRAS (Line Reader and Analysis Software) pro LIA ANA je in vitro diagnostický softwarový zdravotnický prostředek určený jako interpretační nástroj pro INNO-LIA ANA Update. Pro získání nejnovější aktualizované verze se obraťte na místního distributora. Pro správné použití postupujte podle postupu instalace a návodu k softwarovému prostředku.

Připevněte stripy ke čtecí šabloně a umístěte šablonu na skener. LiRAS for LIA ANA porovná intenzity všech linií na patientském stripu s intenzitami odpovídajících linií na cut-off stripu.

Interpretace se provádí podle výše uvedeného popisu. Ekvivokální reaktivita je hlášena, pokud intenzita jednoho nebo více pásů se pohybuje mezi intenzitou cut-off a cut-off mínus 33 %.

Omezení testu:

- Ačkoliv jsou vysoké titry antinukleárních protilátek indikátorem systémové choroby pojiva, výsledky musí být zvažovány v kontextu pacientovy anamnézy.
- Někteří jedinci mají zvýšené hladiny antinukleárních protilátek při minimálních nebo žádných klinických známkách onemocnění.
- Naproti tomu někteří pacienti se zjevnou chorobou mají nedetekovatelné hladiny antinukleárních protilátek.

Parametry testu:

Parametry testu INNO-LIA ANA Update byly stanoveny ve spolupráci s externími centry.

Reprodukovatelnost

Testování přesnosti bylo provedeno testováním sady pozitivních a negativních vzorků. ve třech opakováních spolu s kontrolním vzorkem v jednom cyklu třemi operátory v jednom cyklu ve 3 různých laboratořích. Podobná sestava hodnocení byla použita k vyhodnocení variability mezi jednotlivými šaržemi. (3 šarže).

Pro každý vzorek byly získány identické vzorce linií v různých šaržích. replikátů, ačkoli u některých linií antigenu s hraniční reaktivitou (tj. nejednoznačnou) byla zaznamenána odchylka ve skórování.

Bylo zjištěno, že odchylky zaznamenané v obou studiích jsou nízké a přijatelná.

Citlivost

Citlivost INNO-LIA ANA Update byla hodnocena v 8 nezávislých studiích. centrech: Austrálie, Belgie, Dánsko, Itálie, Nizozemsko (dvě studijní centra), Slovensko a Spojené království.

V tabulce 1 jsou uvedeny příslušné celkové průměrné citlivosti INNO-LIA ANA Update, jak je uvedeno v tabulce 1. a také rozmezí (podle jednotlivých center, pokud je zapojeno více center).

Citlivost byla vypočtena s klinickou diagnózou jako referencí. . Předpokládané profily autoprotilátek pro každou klinickou diagnózu jsou vytištěny tučně.

Tabulka 1. *Senzitivita autoprotilátek detekcí INNO-LIA ANA Update různých autoimunitních patologií*

INNO-LIA ANA Update	SLE (n=342) 2 centers	MCTD (n=39) 1 center	SjS (n=93) 2 centers	SSc (n=40) 1 center	PM/DM (n=98)* 2 centers	CHB (n=43) 2 centers	RA (n=40) 1 center
	Sensitivity (range by center) (%)	Sensitivity (%)	Sensitivity (range by center) (%)	Sensitivity (range by center) (%)	Sensitivity (range by center) (%)	Sensitivity (range by center) (%)	Sensitivity (%)
Sm	10 (5-11)	13	3 (0-6)	0	1 (0-4)	2 (0-4)	0
SmB	23 (18-24)	44	0	5	2 (0-4)	0 (0-0)	3
SmD	10 (5-11)	13	3 (0-6)	0	1 (0-4)	2 (0-4)	0
RNP	16 (15-20)	87	0	0	2 (0-4)	0 (0-0)	3
RNP-70k	11 (11-15)	72	1 (0-2)	3	8 (0-14)	0 (0-0)	5
RNP-A	18 (18-20)	87	1 (0-2)	0	4 (0-6)	2 (0-4)	3
RNP-C	19 (13-20)	74	1 (0-2)	0	2 (0-4)	0 (0-0)	5
SSA/Ro52	20 (13-22)	5	75 (58-89)	5	15 (10-32)	77 (53-89)	3
SSA/Ro60	28 (20-29)	3	73 (55-87)	3	4 (0-11)	91 (80-96)	3
SSB/La	16 (5-17)	3	66 (50-76)	0	6 (0-16)	67 (53-75)	3
Cenp-B	2 (1-5)	0	5 (2-10)	38	3 (0-7)	5 (4-7)	0
Sci-70	2 (0-2)	0	1 (0-2)	13	0	0 (0-0)	0
Jo-1/HRS	1 (0-1)	0	1 (0-3)	0	18 (5-29)	0 (0-0)	0
Ribosomal P	9 (3-10)	0	3 (0-6)	0	0	2 (0-7)	0
Histones	25 (20-25)	5	4 (3-6)	5	2 (0-4)	2 (0-4)	8

* výsledky 1 ze 2 center byly použity pro optimalizaci Jo-1 protilátek INNO-LIA ANA Update. (SLE = systemic lupus erythematosus, MCTD = mixed connective tissue disease, SjS = Sjögren's syndrome, SSc = scleroderma, PM/DM = poly- or dermatomyositis, CHB = congenital heart block, RA = rheumatoid arthritis).

Specifická:

Specifická INNO-LIA-ANA Update byla vypočtena na základě výsledků 20 pacientů s Wegenerovou granulomatózou (WG), 20 pacientů se zánětlivou chorobou vnitřních orgánů (IBD= inflammatory bowel disease), 20 pacientů s anti-fosfolipidovým syndromem (APS), 12 pacientů s psoriatickou artritidou (PsA), 100 pacientů s infekcí (včetně 10 pacientů virem hepatitidy B (HBV), 10 virem hepatitidy C (HCV), 10 parvovirem, 10 streptokokem, 10 mykoplazmaty, 10 herpes simplex, 10 salmonelou, 10 rubeolou, 10 cytomegalovirem (CMV), 10 virem Epstein-Barrové (EBV) a 100 zjevně zdravých dárců krve (Tabulka 2).

Tabulka 2. Prevalence autoproti látek detekovaných INNO-LIA-ANA Update v různých kontrolních skupinách.

INNO-LIA ANA Update		Sm	Sm B	Sm D	RN P	RN P-70k	RN P-A	RN P-C	SS A/Ro52	SS A/Ro60	SS B/La	Cen p-B	Sci-70	Jo-1/HR S	Ribosomal P	Histones
Total (n=272)	Spe-cif-icity (%)	99.3	99.3	100	99.6	99.6	98.9	98.2	98.9	98.2	99.6	99.6	100	100	100	97.4

Odkazy

1. Van Venrooij WJ, *et al.* The consensus workshops for the detection of autoantibodies to intracellular antigens in rheumatic diseases. *J Immunol Methods*, 1991; 140: 181-189. "Since antibodies against B'/B proteins are often found in non-Sm sera (mostly via cross reaction) the presence of anti-D antibodies is indicative for anti-Sm".

Ochranné známky

- INNO-LIA je ochranná známka společnosti Fujirebio Europe N.V., registrovaná v USA a dalších zemích.
- TENDIGO je ochranná známka společnosti Fujirebio Europe N.V., registrovaná v USA a dalších zemích. zemích.
- LiRAS je ochranná známka společnosti Fujirebio Europe N.V. (dříve známá jako Innogenetics). N.V.), registrovaná v EU.
- Auto-LIA je ochranná známka společnosti Fujirebio Europe N.V., registrovaná v USA.