



## **RELISA<sup>®</sup> SCREENINGTEST AV KARDIOLIPINANTIKROPP**

**För Diagnostisk Användning In Vitro**

**För yrkesmässigt bruk**

**Katalognummer: 7096-01 (96 brunnarna) och 7696-01 (576 brunnarna)**

*AVSEDD ANVÄNDNING: Detta är ett enzymimmunanalystestsystem (EIA) för kvalitativ detektion av IgG-, IgA-, eller IgM-antikroppar mot kardiolipin i humanserum. Detta testsystem skall användas som ett hjälpmedel vid utvärdering av risken för trombotiska rubbningar hos personer med systemisk lupus erythematosus eller lupusliknande syndrom.*

### **SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING AV TESTET**

Antifosfolipida antikroppar, bland annat antikardiolipinantikroppar, detekteras ofta i sera från patienter med systemisk lupus erythematosus (1). Flera rapporter har associerat dessa autoantikroppar med olika trombotiska rubbningar i venerna och artärerna, inklusive hjärninfarkt (2), djup ventrombos (3), trombocytopeni (1), lungemboli (4) och återkommande missfall med placentainfarkt (5). "Lupusantikoagulanten" (6), en substans som förlänger det aktiverade partiella tromboplastintestet in vitro, har också associerats med dessa kliniska syndrom, även om den inte är identisk med antikardiolipinantikroppen. Termerna "lupus antikoagulant" och "antifosfolipida antikroppar" används ibland felaktigt som synonymer, trots att dessa immunoglobuliner inte är desamma (1).

Immuno Concepts testsystem är en enzymanalys av mikrobrunnar för detektion av antikardiolipinantikroppar i humanserum. Det har nyligen visat sig att immunanalys i fast fas är en ytterst känslig och specifik metod för detektion av antikardiolipinantikroppar (7-10). Immuno Concepts testsystem har standardiserats med hjälp av ett internationellt erkänt referenspreparat som erhållits från Antiphospholipid Standardization Laboratory, ("Harris Standards" (9)). De kvalitativa resultat som erhållits i denna analys påvisar förekomst eller avsaknad av antikroppar mot kardiolipin.

### **TESTPRINCIP**

Detta test är en kvalitativ indirekt EIA. Mikrobrunnarnas yta har täckts med ett stabiliserat kardiolipinpreparat som fungerar som antigen i detta system. Kalibratorserum, kontroller och spädda patientprover placeras i mikrobrunnarna och odlas så att antikardiolipinantikropparna i provet reagerar med antigenen i den fasta fasen. Efter tvättning för att avlägsna obunden antikropp och annat seraprotein, odlas brunnarna med getantihumana antikroppar som är märkta med pepparrotperoxid. Den preparation av pepparrotperoxidaskonjugerad antikropp som ingår i testsystemet detekterar human IgG, IgA och/eller IgM, men gör ingen skillnad mellan dem. Använd Immuno Concepts RELISA<sup>®</sup> kardiolipin-IgG- och IgM-antikroppstestsystem, katalognummer 7096-02 för att upptäcka och semikvantifiera specifika antikroppar mot IgG- och IgM-antikardiolipin.

Om resultaten är positiva efter inkubation med konjugat av pepparrotperoxid, bildas ett stabilt komplex i tre delar. Detta komplex består av antihuman antikropp konjugerad med pepparrotperoxid bunden till human antikardiolipinantikropp, vilken i sin tur är bunden till den kardiolipin som stabiliserats på plastytan.

Efter ännu ett tvättsteg detekteras detta komplex genom tillsättande av en lösning av tetrametylbensidin (TMB) och H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> som kromogent substrat. Graden av färgutveckling i varje brunn står i relation till koncentrationen av antikardiolipinantikroppar i respektive serumprov. Varje mikrobrunn avläses med spektrofotometer och resultaten erhålls genom jämförelse mellan kalibratorbrunnarnas och provbrunnarnas absorberingar.

# SYSTEMKOMPONENTER - MATERIAL SOM INGÅR

**Förvaring:** Alla komponenter skall kylförvaras i 2-10°C. Får ej frysas.

**Stabilitet:** Komponenterna förblir stabila i minst tolv månader från tillverkningsdatum. Använd inte komponenterna efter utgångsdatum.

## REAKTIVA REAGENSER

**Kardiolipin kotade mikrotiterbrunnar på strips:** Katalognummer 7008-01. En mikrotiter ram innehåller tolv strips med åtta brunnar på varje strips, kotade med en stabiliserad blandning av diphosphatidylglycerol (cardiolipin) från bovin hjärta. Om färre än åtta brunnar skall användas för testning går det bra att bryta loss resterande brunnar och lägga tillbaka dessa i foliepåsen samt återsluta denna. I kylskåpstemperatur kan man då förvara dessa upp till 45 dagar.

**Provspädningsvätska:** Katalognummer 7100 (100 ml). Patentskyddad buffrad provspädningsvätska som används för spädning av patientprover. Denna spädningsvätska innehåller komplementet apolipoprotein H.

**Positivt kontrollserum till antikardiolipinantikropp:** Katalognummer 7021-01. Ampull innehållande 2 ml positivt humankontrollserum av antikardiolipin (bruksfärdig). Detta serum innehåller IgG-, IgM- och IgA-antikardiolipinantikroppar. Serat uppvisar starkt positiv färgutveckling i denna analys.

**Negativt kontrollserum till antikardiolipinantikropp:** Katalognummer 7031-01. Ampull som innehåller 2 ml negativt humankontrollserum av antikardiolipin (bruksfärdig). Detta serum uppvisar ingen färgutveckling i denna analys.

**Kalibratorserum till antikardiolipinantikropp:** Katalognummer 7026-01. Ampull som innehåller 2 ml flytande stabilt kalibratorserum av antikardiolipin (bruksfärdig). Detta serum innehåller både IgG-, IgM- och IgA-antikardiolipinantikroppar. Detta kalibratorserum ger analysen frånslagsvärde.

**Enzymantikroppreagens - human IgG-, IgA-, och IgM-specifik:** Katalognummer 7009-01 (14 ml). Polyvalent getantihuman IgG, IgM och IgA konjugerade med pepparotperoxidas (HRP). Reagensen är bruksfärdig.

**Substratlösning:** Katalognummer 7035 (14 ml). HRP-specifik enzymsubstratlösning som innehåller 3,3',5,5'-tetrametylbensidin (TMB) och väteperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Reagensen är bruksfärdig.

**Stoppreagens:** Katalognummer 7033 (14 ml). Patentskyddad stoppreagens för Immuno Concepts EIA-testsystem. Reagensen är bruksfärdig. VARNING: Frätande. Denna reagens innehåller hydrokloriska och svavelhaltiga syror (mindre än 3 % vardera per volym) och skall hanteras med varsamhet. Förvaras utom räckhåll för barn. Om du råkar röra vid ögonen i samband med hantering skall du omedelbart spola noggrant med vatten och kontakta läkare. Tillsätt aldrig vatten till denna reagens.

## ICKE-REAKTIVA KOMPONENTER

### Hållare för mikrobrunnar

**PBS-tvättbuffert:** Katalognummer 1011. Fosfatbuffrat saltlösningpulver (0,01 M, pH 7,4 ± 0.2). Varje påse innehåller tillräckligt med buffertpulver för att ge en liter tvättbuffert. (Två påsar med buffertpulver levereras för varje 96-mikrobrunnsplatta i kompletta testsatser).

**Framställning:** Lös upp en påse buffertpulver i en liter avjoniserat eller destillerat vatten och förvara avkyllt i 2-10°C i upp till fyra veckor, eller tills det syns tecken på kontamination eller andra synliga förändringar. TILLSÄTT INTE TWEEN 20 ELLER ANDRA RENGÖRINGSMEDEL TILL DENNA BUFFERT.

## ÖVRIGT MATERIAL SOM BEHÖVS - MEDFÖLJER EJ

Volymetriska precisionspipetter för pipettering av 10-1000 µl volymer

Klämflaska för att pipettering av tvättbuffertlösning till mikrobrunnarna eller ett automatiskt tvättsystem för mikrobrunnar

Enlitersbehållare för PBS-tvättbuffert

Avjoniserat eller destillerat vatten

Plattläsningspektrometer som kan avläsa absorption vid 450 nm

Provrör för framställning av serumspädningar

Läskapper eller pappershanddukar

Multikanalspipett som kan pipettera till 8 brunnar

## FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Allt material av humant ursprung som använts i den här produkten har testats med FDA-godkända metoder och visat sig vara negativt (inte upprepat reaktivt) för antikroppar mot humant immunbristvirus-1 (HIV-1), humant immunbristvirus-2 (HIV-2), hepatit C-virus (HCV) och hepatit B ytantigen (HBsAg). Ingen testmetod kan emellertid helt garantera att det inte förekommer HIV-1, HIV-2, hepatit-C, hepatit-B, eller andra smittämnen. Därför skall allt material hanteras som potentiellt smittsamt.
2. Alla kontrollsera, kalibratorsera och patientprover på biosäkerhetsnivå 2 skall hanteras enligt rekommendationerna för potentiellt smittsamt humanserum eller blodprov i Centrum för Sjukdomskontroll/Nationella hälsostitutets manual: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1999 Edition*.
3. Natriumazid (0,09%) används som konserveringsmedel i kontrollen och kalibratorserat. Natriumazid kan reagera med ledningsrör av bly eller koppar och bilda högexplosiva metallazider. När reagenser kasseras, skall man spola med rikliga mängder kranvatten för att skölja bort eventuella rester i avloppsledningarna. Natriumazid är ett gift och kan vara toxiskt vid förtäring.
4. Spädning av komponenter eller byte till andra komponenter än de som medföljer detta system kan ge motsägande resultat.
5. Värm inte upp inaktiva serumprov som skall användas för antikardiolipintester. Värmeinaktivering kan ge förhöjda värden.
6. Denna sats är avsedd för diagnostisk användning *in vitro*.
7. Pipettera aldrig med munnen och undvik att komma i kontakt med reagenser och prover med hud eller slemhinnor. Tvätta med bakteriedödande tvål och rikligt med vatten om sådan kontakt inträffat.
8. Undvik att röka, äta eller dricka i områden där prov eller satsreagenser hanteras.
9. Undvik alltid stänk och alstring av aerosoler.
10. Andra inkubationstider och temperaturer än de angivna kan ge felaktiga resultat.
11. Korskontamination mellan reagenser och prover kan ge felaktiga resultat. Proverna måste hållas instängda i mikrobrunnarna under analysen.
12. Återanvändningsbart glas måste tvättas och noggrant sköljas från rengöringsmedel innan det används. Allt glas måste rengöras och torkas före användning.
13. Placera alla reagenser, mikrobrunnar och prover i rumstemperatur (18-24°C) före användning.
14. Använd engångshandskar vid hantering av prover och reagenser, och tvätta händerna noggrant efteråt.
15. Mikrobisk kontamination av reagenser eller prover kan ge felaktiga resultat.
16. Stoppreagensen är frätande och kan orsaka brännskador. Denna reagens innehåller hydrokloriska och svavelhaltiga syror (mindre än 3 % vardera per volym) och skall hanteras med varsamhet. Förvaras utom räckhåll för barn. Om du råkar röra ögonen vid hantering skall du omedelbart spola med vatten och kontakta läkare. Tillsätt aldrig vatten i denna reagens.

## PROVTAGNING

**Provtagning:** Serum rekommenderas som prov. Cirka 5 ml helblod skall tas aseptiskt genom venpunktion med hjälp av ett sterilt vakuumbloodtagningrör eller annat lämpligt blodtagningssystem. Låt blodet koagulera i rumstemperatur (18-24°C). Serum skall så snart som möjligt separeras från koagler genom centrifugering för att minimera hemolys. Immuno Concepts rekommenderar inte att plasma används i denna analys, eftersom det finns risk att plasman kontamineras med trombocyter. Trombocyter kan påverka resultatet genom att reagera med antifosfolipidantikroppar.

**WARNING:** Värm inte upp inaktiva serumprov som skall användas för antikardiolipintester. Värmeinaktivering kan ge förhöjda värden.

**Störande substanser:** Sera som uppvisar en hög grad av hemolys, ikterus, lipemi eller mikrobiell tillväxt skall inte användas, eftersom dessa betingelser kan leda till avvikande resultat. Prover som innehåller synliga partiklar bör klargöras genom centrifugering före analysen.

**Förvaring:** Sera kan förvaras i 2-10°C under högst en vecka. Om analysen fördröjs ytterligare, skall sera frysas i -20°C eller lägre. Serum bör inte förvaras i självavfrostande fryslagerum.

**WARNING:** Upprepad frysning/upptining av patientprover kan ge felaktigt positiva eller negativa resultat.

## ALLMÄNNA PROCEDURANVISNINGAR

1. Det är ytterst viktigt att alla satskomponenter och serumprov får stå i rumstemperatur (18-24°C) före användning. En hel liter tvättbuffert kan ta flera timmar att värma till 20°C sedan den har tagits ur kylskåpet. Inkubationstemperaturer som ligger högre eller lägre än det angivna området kan leda till felaktiga resultat. Sätt tillbaka oanvända prover och reagenser i kylförvaring efter användning.
2. Blanda reagenserna väl före användning genom försiktig inversion. Snurra eller rotera inte reagenserna. Undvik skumning.
3. När provspädningarna framställs skall pipettspetsarna torkas av innan serum dispensereras i provspädningen. Överflödigt prov som sitter fast på utsidan av pipettspetsen påverkar resultaten.
4. Vi rekommenderar att en multikanalspipettor används eftersom detta ger mer enhetliga reagensdispenserings, inkubationstider och reaktionstider.
5. **Det är ytterst viktigt att brunnarna tvättas ordentligt.** Otillräckligt tvättade brunnar leder till höga bakgrundsvärden och kan ge falskt positiva resultat. Manuell tvätt: Aspirera brunnarnas innehåll och fyll därefter varje brunn med tvättbuffertlösning. Undvik korskontamination mellan brunnarna, särskilt i första tvätten efter aspirationen. Töm all tvättlösning från brunnarna genom att vända dem upp och ned och skaka därefter resterande tvättbuffert från brunnarna med en bestämd "knyck" med handleden. Upprepa dessa steg för totalt tre till fem tvättar. Brunnarna skall sedan knackas bestämt mot en pappershandduk eller annat absorberande material för att avlägsna alla spår av tvättlösningrester. Om du använder det automatiserade tvättsystemet för mikrobrunnar är du säker på att brunnarna blir ordentligt rengjorda. Detta rekommenderas därför.  
**OBSERVERA:** Då det finns olika typer av tvätteklik och automatiserade program kan antalet tvättar behöva justeras för optimala resultat. Varje laboratorium bör bestämma mest effektiva antal tvättar för sitt tvättsystem.
6. Om resterande tvättbuffert inte avlägsnas fullständigt kan detta leda till ojämn färgutveckling. Mikrobrunnssremorna skall knackas bestämt mot och läskas på absorberande papper eller handdukar för att minimera den kvarvarande mängden tvättlösning.
7. Det är viktigt att alla steg sker i rätt tid. Alla serumprover skall spädas innan proceduren påbörjas och de måste dispensereras till mikrobrunnarna på så kort tid som möjligt (högst fem minuter). Batchstorlekarna bör ställas in så att provhanteringen går så smidigt som möjligt under denna tidsperiod.
8. Med undantag för den sista inkuberingen (substratlösningen) startar varje inkubationstid med att prover eller reagenser dispensereras. Inkubationen av substratlösningen måste vara exakt 15 minuter för varje brunn. Alla prover och reagenser skall dispensereras i samma ordningsföljd och med konstant hastighet.
9. Använd inte Tween 20, Triton X-100 eller andra rengöringsmedel i tvättbuffertar eller andra reagenser som används i denna analys.

## TOLKNING AV RESULTAT

### BERÄKNINGAR

Subtrahera absorptionsvärdet för ämnesbrunnen från de absorptionsvärden som erhållits i kalibrator-, kontroll- och patientprovbrunnarna för att få fram nettoabsorptionsvärdena. Beräkna de genomsnittliga nettoabsorptionsvärdena för dubbla brunnar.

### KVALITETSKONTROLL

1. Kalibrators genomsnittliga nettoabsorptionsvärde måste vara minst 0,150. Kalibrators genomsnittliga nettoabsorptionsvärde används som analysens frånslagsvärde.
2. Kontrollbrunnen skall ha ett absorptionsvärde som är mindre än 0,100. Kontrollabsorptionsvärden större än 0,100 tyder på otillräcklig tvättning eller kontamination av reagenser.
3. Brunnarna som innehåller positiv kontroll bör ge ett nettoabsorptionsvärde som är större än frånslagsvärdet. Brunnarna som innehåller negativ kontroll bör ge ett nettoabsorptionsvärde som är mindre än frånslagsvärdet. Om kontrollerna inte motsvarar dessa gränsvärden är testet ogiltigt och måste göras om.
4. Frånslagsvärdet måste erhållas för varje serie. Resultaten blir ogiltiga om ett frånslagsvärde från en annan serie används.

### TOLKNING AV TESTRESULTATEN

1. Patientprovbrunnar som har nettoabsorptionsvärden som är större än eller lika med frånslagsvärdet betraktas som positiva för antikardiolipinantikroppar. Patientprovbrunnar som har nettoabsorptionsvärden som är mindre än frånslagsvärdet betraktas som negativa för antikardiolipinantikroppar.
2. Provbrunnar som har nettoabsorptionsvärden som ligger under men inom 5 procent från frånslagsvärdet betraktas som gränsfall. Gränsfallsresultat skall upprepas eller testas för specifika IgG- och IgM-antikroppar med hjälp av Immuno Concepts RELISA® kardiolipin IgG- och IgM- antikropptestsystem, katalognummer 7096-02.

### RAPPORTERING AV RESULTATET

Resultatet skall rapporteras som positivt eller negativt för antikardiolipinantikroppar.

# FÖRVÄNTADE RESULTAT

## FÖRVÄNTAD FÖREKOMST AV ANTIKROPPAR

Många studier har visat på sambandet mellan antikardiolipinantikroppar och systemisk lupus erythematosus (1, 7, 8, 11-16). I dessa studier låg förekomsten av IgG-antikardiolipinantikroppar mellan 23 och 54 procent (medelvärde 41,4%) och nivåerna för IgM-antikardiolipinantikroppar mellan 5 och 41 procent (medelvärde 25,5%). Skillnaderna mellan de intervall som påträffats i dessa studier beror troligen på vilka kriterier för patienturval som använts och vilka patientpopulationer som studerats. Immuno Concepts RELISA® testsystem för screening av kardiopinantikroppar användes för att testa serumprover från 60 patienter som sökte läkare för reumatologiska sjukdomar. Denna patientpopulation valdes på grund av kliniskt reumatiska sjukdomar och inte för något speciellt sjukdomstillstånd. I denna populationen var tjugotre prover (38,3%) positiva för antikardiolipinantikroppar.

## TESTETS BEGRÄNSNINGAR

1. Diagnos kan inte ställas enbart på grundval av antikroppnivåer för antikardiolipin. Läkaren måste tolka dessa resultat med hänsyn till patientens historia och symptom, de fysiska upptäckterna och andra diagnostiska metoder.
2. Behandling skall inte påbörjas enbart på grundval av ett positivt test för antikardiolipinantikroppar. Kliniska indikationer, andra laboratorieupptäckter och läkarens kliniska intryck måste beaktas innan eventuell behandling påbörjas.
3. Om patienten svarar negativt på antikardiolipinantikroppar, men de kliniska resultaten tyder på förekomst av antifosfolipidantikroppar, rekommenderar vissa forskare analys av lupusantikoagulant som bekräftelse på de negativa antikardiolipinresultaten. Om varken antikardiolipinantikropp- eller lupusantikoagulantresultaten är positiva, betraktas patienten som positiv för antifosfolipidantikroppar (1).
4. Patienter med serologiskt positiva syfilisinfektioner kan uppvisa ett positivt resultat för antikardiolipinantikroppar. Dessa patienter anses i allmänhet inte löpa större risk för trombos, till skillnad från patienter med reumatisk sjukdom och antikardiolipinantikroppar. 17 prover från patienter med bekräftad aktiv eller serumfast syfilis (FTA-Abs och/eller MHA-TP-positiv) testades med Immuno Concepts screeningtestsystem RELISA® kardiopinantikropp. 13 (76,5%) av dessa prover var positiva för antikardiolipinantikroppar. Diagnosen syfilis skall bekräftas eller uteslutas genom specifika antitreponemala antikroppanalyser.
5. Antikardiolipinantikroppar kan förekomma tillfälligt under många infektioner. Om en patient testas positivt samtidigt som det finns kliniska tecken på infektion, skall testet upprepas när infektionen har gått tillbaka.
6. Detta är ett kvalitativt test som fastställer förekomst respektive avsaknad av antikardiolipinantikroppar. Testet kan inte användas för att fastställa kvantitativa nivåer av antikardiolipinantikroppar.
7. Detta test är ett screeningtest som använder sig av ett polyvalent antihumanimmunglobulinkonjugat. Testet detekterar antikardiolipinantikroppar i IgG-, IgM-, eller IgA-klasser, men skiljer inte mellan dem.

## PRESTANDA

### KLINISK SPECIFICITET

**Normala kontroller:** Serumprover från 141 friska bloddonatorer testades med Immuno Concepts screeningtestsystem RELISA® kardiopinantikropp. Fem av dessa prover reagerade positivt för antikardiolipinantikroppar. Grundat på denna ej utvalda normala population är Immuno Concepts Screeningtestsystem RELISA® kardiopinantikropp specifikt till 96,5% för antikardiolipinantikroppar.

**Reumatiska sjukdomskontroller:** Serumprover från 20 patienter med andra reumatiska sjukdomar än SLE och inga tidigare trombotiska sjukdomar testades med Immuno Concepts screeningtestsystem RELISA® kardiopinantikropp. Inget av dessa prover reagerade positivt för antikardiolipinantikroppar. Analyspecificiteten för denna analys i den valda populationen var 100%.

### KLINISK SENSITIVITET

Immuno Concepts RELISA® testsystem för screening av kardiopinantikroppar användes för analys av serumprover från 60 patienter som sökte läkare för reumatologiska sjukdomar. Denna patientpopulation valdes på grund av kliniskt reumatiska sjukdomar och inte för något speciellt sjukdomstillstånd. I den här populationen var 23 prover (38,3%) positiva för antikardiolipinantikroppar.

Serumprover från 20 patienter med SLE och minst en tidigare trombotisk sjukdom testades med Immuno Concepts screeningtestsystem RELISA® kardiopinantikropp. 15 (75%) av dessa prover reagerade positivt för antikardiolipinantikroppar.

# BIBLIOGRAFI

- Harris, E.N., Gharavi, A.E., and Hughes, G.R.V. Anti-phospholipid Antibodies. Clin. Rheum. Dis. 11:591-609, 1985.
- Harris, E.N., Gharavi, A.E., Asherson, R.A., et al. Cerebral infarction in systemic lupus erythematosus: association with anticardiolipin antibodies. Clin. Exp. Rheumatol. 2:47-51, 1984.
- Mueh, J.R., Herbst, K.D., Rapaport, S.I. Thrombosis in patients with the lupus anticoagulant. Ann. Intern Med. 92:156-159, 1980.
- Anderson, N.E., Ali, M.R. The lupus anticoagulant, pulmonary thromboembolism and fatal pulmonary hypertension. Ann. Rheum. Dis. 43:760-763, 1984.
- Derue, G.J., Englert, H.J., Harris, E.N., et al. Fetal loss in systemic lupus erythematosus: association with anticardiolipin antibodies. J. Obstet. Gynaecol. 5:207-209, 1985.
- Boey, M.L., Colaco, C.B., Gharavi, A.E., Elkon, K.B., Loizou, S., and Hughes, G.R.V. Thrombosis in systemic lupus erythematosus: striking association with the presence of circulating lupus anticoagulant. Brit. Med. J. 287:1021-1023, 1983.
- Harris, E.N., Gharavi, A.E., Boey, M.L., Patel, B.M., Mackworth-Young, C.G., Loizou, S., and Hughes, G.R.V. Anticardiolipin Antibodies: Detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. Lancet ii:1211-1214, 1983.
- Loizou, S., McCreagh, J.D., Rudge, A.C., Reynolds, R., Boyle, C.C., and Harris, E.N. Measurement of anticardiolipin antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): standardization and quantitation of results. Clin. Exp. Immunol 62:738-745, 1985.
- Harris, E.N., Gharavi, A.E., and Hughes, G.R.V. Anticardiolipin antibody testing: the need for standardization. Arth. Rheum. 30:835-837, 1987.
- Harris, E.N. Solid-phase anticardiolipin test revisited. Am. J. Med. 85:599-601, 1988.
- Colaco, C.B., Male, D.K. Anti-phospholipid antibodies in syphilis and a thrombotic subset of SLE: distinct profiles of epitope specificity. Clin. Exp. Immunol. 59:449-456, 1985.
- McHugh, N.J., Maymo, J., Skinner, R.P., James, I., and Maddison, P.J. Anticardiolipin antibodies, livedo reticularis, and major cerebrovascular and renal disease in systemic lupus erythematosus. Ann. Rheum. Dis. 47:110-115, 1988.
- Koike, T., Sueishi, M., Funaki, H., Tomioka, H., and Yoshida, S. Anti-phospholipid antibodies and biological false positive serological test for syphilis in patients with systemic lupus erythematosus. Clin. Exp. Immunol. 56:193-199, 1984.
- Cronin, M.E., Biswas, R.M., Van der Straeten, C., Fleisher, T.A., and Klippel, J.H. IgG and IgM Anticardiolipin Antibodies in Patients with Lupus with anticardiolipin antibody associated clinical syndromes. J. Rheumatol. 15:795-798, 1988.
- Sturfelt, G., Nived, O., Norberg, R., Thorstensson, R., and Krook, K. Anticardiolipin antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. Arth. Rheum. 30:382-388, 1987.
- Ishii, Y., Nagasawa, K., Mayumi, T., and Niho, Y. Clinical importance of persistence of anticardiolipin antibodies in systemic lupus erythematosus. Ann. Rheum. Dis. 49:387-390, 1990.

Kontakta Immuno Concepts innan du använder produkten om skyddsförpackningen är skadad.



Fabrikant



Auktoriserad Representant europeiska unionen



Temperatur begränsning



Innehåller tillräckligt för <n> test



Se instruktionerna



In vitro diagnostiska medicinapparat



MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
D-30175 Hannover, Germany



Immuno Concepts, N.A. Ltd. 9825 Goethe Road, Suite 350 Sacramento, CA. 95827  
Technical Support USA: 1.800.251.5115 Outside USA: 1.916.363.2649  
Email: [technicalsupport@immunoconcepts.com](mailto:technicalsupport@immunoconcepts.com)

Cat 7096-01-I,

4.11.02.003.098-Sv

Rev 4.0 © Copyright 2011

## IVD-direktiv (2001/59/EG) riskfraser



**REF 7035: Substratlösning**

<b>R23/ 24/ 25</b>	Giftigt vid inandning, hudkontakt och förtäring.
<b>R39/ 23/ 24/ 25</b>	Giftigt: risk för mycket allvarliga bestående hälsoskador vid inandning, hudkontakt och förtäring.
<b>S1/2</b>	Förvaras i låst utrymme och oåtkomligt för barn.
<b>S7</b>	Förpackningen förvaras väl tillsluten.
<b>S36/ 37</b>	Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar.
<b>S45</b>	Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten.

# RELISA® SCREENING AV KARDIOLIPINANTIK-ROPP TESTPROCEDUR

**Alla proerv och reagenser (inklusive tvättbuffertlösningen) och mikrobrunnarna måste stå i rumstemperatur före användning.**

## 1. IORDNINGSTÄLLANDE AV ARBETSBLAD

Märk det arbetsblad som medföljer satsen för att ange var proven skall placeras i mikrobrunnarna. Analysera kalibrator och kontrollerna två gånger. En brunn används för kontrollreagens. Vi rekommenderar att varje patientprov, kalibrator och kontroll analyseras två gånger tills en acceptabel precision för analysen har fastställts för ert laboratorium.

## 2. REKONSTITUTION AV TVÄTTBUFFERT (PBS)

Lös upp innehållet i en buffertpåse i en liter avjoniserat eller destillerat vatten. PBS-tvättbufferten kan täckas och förvaras i 2-10°C i högst fyra veckor.

## 3. SPÄDNING AV PROV

Späd patientproverna 1:100 genom tillsättande av 10 µl serum till 990 µl provspädningsvätska. Blanda väl. Kontrollerna och kalibrator levereras utspädda och kräver ingen ytterligare spädning.

## 4. FÖRBERED MIKROTITERBRUNNAR

Ta bort det begärda antalet mikrotiter strips från påsen och placera dem i ramhållaren. Mikrotiter stripsen måste fästas stadigt i ramhållaren. Tryck bestämt ner i båda ändarna av stripsen så de säkert fäster i ramhållaren. Vid bruk av individuella brunnar eller mindre än en hel strip med brunnar bör du vara säker på att varje brunn sitter riktigt på plats. Brunnar som är ordentligt på plats i ramhållaren trillar inte ut när ramhållaren är omvänd. Om mindre än 8 brunnar behövs för testet kan brunnen delas genom att knäppa dem itu. Oanvända brunnar kan förvaras i foliepåsen förseglad och kylt i upp till 45 dagar.

## 5. DISPENSERING AV SERUMSPÄDNINGAR

Dispensera 100 µl av kalibratorena, kontrollerna och patientproven i lämpliga brunnar (se arbetsblad). Dispensera 100 µl provspädningsvätska i reagensämnesbrunnen.

## 6. INKUBATION AV MIKROBRUNNARNA (30 minuter i rumstemperatur, det vill säga 18-24°C)

Odla i rumstemperatur i 30 minuter. Brunnarna skall skyddas mot drag och temperaturväxlingar under inkubationstiden. Brunnarna kan om så önskas täckas med genomskinlig tejp eller pappershandduk för att skydda dem från damm och andra främmande ämnen.

## 7. TVÄTTNING AV MIKROBRUNNARNA (se "Allmänna proceduranvisningar" 5 och 6)

Tvätta brunnarna tre till fem gånger med PBS tvättbuffertlösning. Manuell tvätt: Aspirera brunnarnas innehåll och fyll därefter varje brunn med tvättbuffertlösning. Undvik korskontamination mellan brunnarna, särskilt i första tvätten efter aspirationen. Töm all tvättlösning från brunnarna genom att vända dem upp och ned och skaka därefter resterande tvättbuffert från brunnarna med en bestämd "knyck" med handleden. Upprepa detta för totalt tre till fem tvättar. Brunnarna skall sedan knackas bestämt mot en pappershandduk eller annat absorberande material för att avlägsna alla kvarvarande spår av tvättlösning.

## 8. DISPENSERING AV ENZYMANTIKROPPREAGENS

Dispensera 100 µl enzymantikroppreagens i varje brunn.

## 9. INKUBATION AV MIKROBRUNNARNA (30 minuter i rumstemperatur, det vill säga 18-24 °C)

Odla i rumstemperatur i 30 minuter. Brunnarna skall skyddas mot drag och temperaturväxlingar under inkubationstiden. Brunnarna kan om så önskas täckas med genomskinlig tejp eller pappershandduk för att skydda dem från damm och andra främmande ämnen.

## 10. TVÄTTNING AV MIKROBRUNNARNA

Tvätta brunnarna tre till fem gånger med PBS tvättbuffertlösning. Manuell tvätt: Aspirera brunnarnas innehåll och fyll därefter varje brunn med tvättbuffertlösning. Undvik korskontamination mellan brunnarna, särskilt i första tvätten efter aspirationen. Töm all tvättlösning från brunnarna genom att vända dem upp och ned och skaka därefter resterande tvättbuffert från brunnarna med en bestämd "knyck" med handleden. Upprepa detta för totalt tre till fem tvättar. Brunnarna skall sedan knackas bestämt mot en pappershandduk eller annat absorberande material för att avlägsna alla spår av kvarvarande tvättlösning.

## 11. DISPENSERING AV SUBSTRATLÖSNING

Förvissa dig om jämna intervaller med hjälp av ett tidur och dispensera 100 µl substratlösning i varje brunn. Substratlösningen måste tillsättas i brunnarna i jämn hastighet så att varje brunn inkuberas exakt lika länge (15 minuter). Substratlösningen i brunnar som inkuberas med positiva prover blir blå, medan lösningen i brunnar som inkuberas med negativa prover blir färglösa till mycket svagt blå.

## 12. INKUBATION AV MIKROBRUNNAR (exakt 15 minuter i rumstemperatur, dvs 18-24°C)

Odla i rumstemperatur i exakt 15 minuter. Brunnarna skall skyddas mot drag och temperaturväxlingar under inkubationstiden.

## 13. DISPENSERING AV STOPPREAGENS

När den första brunnen har inkuberats exakt 15 minuter, skall 100 µl stoppreagens tillsättas i varje brunn, i samma ordningsföljd och med samma hastighet som substratlösningen tillsattes i brunnarna. När stoppreagens tillsätts skiftar den blå substratlösningen till gult, medan den färglösa lösningen förblir färglös.

## 14. LÄSNING AV BRUNNARNAS ABSORPTION

Brunnarna måste avläsas i en plattläsande spektrofotometer inom 30 minuter efter tillsättandet av stoppreagensen. Brunnarna avläses vid 450 nm mot reagensämnesbrunnen. Om det finns en spektrofotometer med dubbla våglängder skall referensfiltrets våglängd vara 600-650 nm. Om du avläser mikrobrunnarna vid 450 nm utan referensfilter får du högre absorptionsvärden.

**TEKNISK SUPPORT:** +1-916- 363-2649  
eller e-mail: [technicalsupport@immunoconcepts.com](mailto:technicalsupport@immunoconcepts.com)

