

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Všichni jedinci mají měřitelnou hladinu suPAR a u zdravých dárců krve (N=9305) je medián hladiny suPAR u mužů ve věku 18-65 let 2,22 ng/ml (interval 25-75 % od 1,76–2,90 ng/ml)² a u žen ve věku 18-65 let 2,56 ng/ml (interval 25-75 % od 2,05–3,23 ng/ml)². U pacientů přicházejících na pohotovost je úroveň suPAR přibližně 3-6 ng/ml^{3,4,7} a u pacientů se závažným onemocněním a selháním orgánů je hodnota suPAR často dvouciferná^{5,6}. Čím vyšší je hladina suPAR, tím vyšší je riziko progresse onemocnění a tím horší je prognóza.

PROVOZNÍ CHARAKTERISTIKY

Mez slepého vzorku (LOB) - zobrazuje odchylku slepého vzorku (pouze pufr). Nejvyšší hodnota ze 3 dávkových validací. Mez detekce (LOD) - je nejnižší možná detekce suPAR, která není slepým vzorkem. Nejvyšší hodnota ze 3 dávkových validací.

Mez stanovitelnosti (LOQ) - je stanovena jako vzorek s nejnižší koncentrací v rozmezí 0-2 ng/ml, jehož variační koeficient (CV%) nepřekročí 25 %. Nejvyšší hodnota ze 3 dávkových validací.

	LOB	LOD	LOQ
X (NG/ML) =	0,4	1,0	2,0

Nepřesnost a opakovatelnost

Vnitrosériové výsledky se odhadují na základě 5 měření v jednom dni a poskytují střední, směrodatnou odchylku a variační koeficient (CV%). Vnitrosériová odchylka je v rozmezí 5 dnů. Nejvyšší CV% ze 3 dávek jsou zobrazeny níže.

	VZOREK 1	VZOREK 2	VZOREK 3	VZOREK 4
X (NG/ML)=	2,0	4,0	7,4	14,0
CV V RÁMCI CYKLU (%)	22 %	23 %	12 %	10 %
CV MEZI CYKLY (%)	29 %	20 %	18 %	18 %

LINEARITA

Bylo prokázáno, že analýza suPAR pomocí testu Quick Triage na čtečce aLF Reader je lineární od 2,5 ng/ml do 15,2 ng/ml, v rámci 7,5% stupně nelinearity v tomto intervalu.

EFEKT PROZÓNY

Test suPARnostic® Quick Triage neprokázal žádný efekt prozóny (tzv. hook effect) v koncentracích nižších než 70 ng/ml (to je nejvyšší testovaná koncentrace suPAR).

PŘESNOST (POROVNÁNÍ METOD)

K odhadu schopnosti testu Quick Triage stanovit suPAR ve vzorcích pacientů byla provedena Passing-Bablokova regrese vůči testu suPARnostic® ELISA.

Výsledky

Typ vzorku	Počet párů	Sklon	Průsečík Y	Passing-Bablokova regrese	Hodnota rozmezí
Plazma	60	1,13	-0,39	0,893	1,3-18,7

X = suPARnostic ELISA Y = suPARnostic Quick Triage

ZACHÁZENÍ S ODPADEM

Nepoužité reagentie a odpad zlikvidujte v souladu s vnitrostátními, federálními, státními a místními předpisy.

REF	LOT		
Katalogové č.	Č. šarže	Nahlédněte do návodu k použití	Teplotní limity
Nepoužívejte opakovaně	Nepoužívejte, pokud je obal poškozený nebo otevřený	Obsah postačuje na provedení <n> testů	Datum spotřeby

REFERENCE

1. www.alf-reader.com
2. Hastrup E, Grau K, Eugen-Olsen J, Thorball C, Kessing LV, Ullum H: Soluble urokinase plasminogen activator receptor as a marker for use of antidepressants. PLoS One 2014, e110555.
3. Raggam RB, Wagner J, Pruller F, Grisold A, Leitner E, ZollnerSchwetz I, et al: Soluble urokinase plasminogen activator receptor predicts mortality in patients with systemic inflammatory response syndrome. J Intern Med 2014, 12238:10.
4. Haupt TH, Petersen J, Ellekilde G, Klausen HH, Thorball CW, Eugen-Olsen J, et al: Plasma suPAR levels are associated with mortality, admission time, and Charlson Comorbidity Index in the acutely admitted medical patient: a prospective observational study. Crit Care 2012, 16:R130.
5. Koch A, Zimmermann HW, Gassler N, Jochum C, Weiskir-chen R, Bruensing J, et al.: Clinical relevance and cellular source of elevated soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in acute liver failure. Liver Int 2014, 10
6. Donadello K, Scollotta S, Taccone FS, Covajes C, Santonocito C, Cortes DO, et al: Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor as a prognostic biomarker in critically ill patients. J Crit Care 2014, 29:144-149.
7. Rasmussen LH, Ladelund S, Haupt TH, Ellekilde GE, Eugen-Olsen J, Andersen O. Combining National Early Warning Score With Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) Improves Risk Prediction in Acute Medical Patients: A Registry-Based Cohort Study. Crit Care Med. 2018 Dec;46(12):1961-1968.



Návod k použití testu suPARnostic® Quick Triage pro čtečku aLF Reader

Test na bázi rozpustného receptoru aktivátoru plazminogenu urokinázy

REF A003



suPARnostic a logo ViroGates jsou zapsanými ochrannými známkami společnosti ViroGates A/S Dánsko. ©2008 ViroGates.



ViroGates A/S
Banevaenget 13
Birkeroed 3460,
Dánsko
Tel.: +45 2113 1336



Tento výrobek je chráněn jedním nebo více americkými, evropskými a/nebo zahraničními patenty.

Potřebujete-li další pokyny nebo návod ve vašem místním jazyce, navštivte stránky www.virogates.com. Případně se obraťte na místního distributora, který vám poskytne návod ve vašem jazyce.

ÚČEL POUŽITÍ

Určeno pro profesionální použití.

Test suPARnostic® Quick Triage se používá ke stanovení hladiny rozpustného receptoru aktivátoru plazminogenu urokinázy (suPAR) v lidské EDTA a heparinované plazmě jako hodnoty v ng/ml. Test suPARnostic® Quick Triage se měří na čtečce aLF Reader od společnosti Qiagen.¹

Interpretace výsledků musí být provedena s ohledem na klinickou anamnézu pacienta a výsledky dalších diagnostických testů, pokud jsou k dispozici.

SHRNUTÍ suPAR JAKO MARKERU PROGNÓZY ONEMOCNĚNÍ

suPAR je rozpustná forma receptoru aktivátoru plazminogenu urokinázy (uPAR). Množství suPAR je měřítkem aktivace imunitního systému a zánětu. suPAR je nespecifický biomarker, který se zvyšuje při přítomnosti onemocnění. Čím vyšší je hladina suPAR, tím vyšší je riziko progresse onemocnění a tím horší je prognóza pacienta.

PRINCIPY POSTUPU STANOVENÍ

Test suPARnostic® Quick Triage je test využívající laterální průtokovou imunoanalýzu. Přístroj využívá monoklonální krysí a se zlatem konjugované myší protilátky proti lidskému suPAR, které umožňují kvantitativní měření plazmatické hladiny suPAR. EDTA a heparinová plazma se smíchá s elektroforetickým pufrům a aplikuje se na test suPARnostic® Quick Triage. Během 20 minut inkubace reaguje vzorek plazmy s protilátkami proti suPAR konjugovanými se zlatem a migruje přes nitrocelulózovou membránu. Konjugát zlata obsahující vzorek suPAR je vázán záchytnou protilátkou suPAR na testovací čárce, zatímco protilátka nevázaná na suPAR je zachycena kontrolní čárce (anti-myší protilátka).

Test suPARnostic® Quick Triage je kalibrován na základě interní kontroly. Nebyl stanoven žádný mezinárodní standard.

REAGENCIE A MATERIÁLY

Dodané reagentie

Tato souprava obsahuje reagentie postačující k provedení 25 testů.

1. Laterální průtokové testy, každý v hliníkovém sáčku s vysoušecím sáčkem. Množství: 25 testů. Příprava: připravené k použití.
2. Testovací elektroforetický pufr, pufr PBS, pH 7,2, s vlastnickými chráněnými přísadami a 0,05% Bronidoxem® jako konzervantem. Množství: 3,5 ml. Příprava: připravené k použití.
3. Návod k použití.
4. Čárové kódy pro nahrání metod.

Požadovaný, ale nedodaný materiál

- Nastavitelná pipeta se špičkami, 10 µL – 100 µL.
- Hodiny, časovač nebo stopky.
- Jednorázové rukavice.
- Čtečka aLF Reader (#ESLR12-MB-6401).
- Eppendorfova zkumavka nebo jiná směšovací zkumavka.

POŽADOVANÉ ŠKOLENÍ

Pro použití testu suPARnostic® Quick Triage je nutné, aby byl uživatel plně proškolen v ovládání čtečky aLF Reader.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ A DOPORUČENÍ OHLEDNĚ REAGENCIÍ

- Určeno pro profesionální použití.
- Nepoužívejte součásti sady po uplynutí uvedené doby použitelnosti sady.
- Nemíchejte reagenzie z různých šarží sady.
- Nezamrazujte žádné součásti sady.
- Nepipetujte ústy ani nepožírejte žádné z reagenzií.
- Při provádění testu nebo v místech, kde se manipuluje se vzorky nebo reagenziemi, nekuřte, nejezte a nepijte.
- Nemíchejte vzorky plazmy od různých pacientů nebo z různých odběrů krve téhož pacienta.
- Lidské vzorky mohou být kontaminovány infekčními agens. Nepožívejte aerosoly, nevystavujte je otevřeným ranám a nevedchujte je. Používejte ochranné rukavice a správně likvidujte biologické vzorky.
- Nepoužívejte test, pokud je sáček poškozený nebo nějakým způsobem otevřený.
- Uvědomte si možné naředění suPAR v případě transfuze, infuze apod.

SKLADOVÁNÍ REAGENCIÍ A MANIPULACE S NIMI

Testy musí být uloženy v uzavřených fóliových sáčcích. Skladujte součásti sady při teplotě 18-24 °C. Testy a elektroforetický pufr lze používat do data uvedeného na sáčku nebo lahvičce.

Po každém použití uzávěr pevně uzavřete.

DŮLEŽITÉ UPOZORNĚNÍ: Testy je třeba použít ihned po otevření sáčku. Nelze je skladovat pro pozdější použití.

ODBĚR VZORKŮ

Typ vzorku	Požadavek na vzorek
Vzorek plazmy	10 µl plazmy

ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

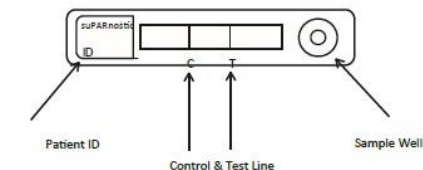
Příprava vzorků plazmy;

1. Plná krev se odebere do centrifugační zkumavky obsahující EDTA nebo heparin proti srážení krve.
2. Odstřeďte krev při 3000 x g po dobu 1-10 min.
3. Vzorky plazmy přenášejte a uchovávejte v oddělených označených zkumavkách.
4. Každý vzorek opatřete datem a označte. Pro dlouhodobé skladování uchovávejte při teplotě -20 °C. Vyhněte se cyklům zmrazování a rozmrazování.

Velmi hemolyzované, lipemické nebo mikrobiologicky kontaminované vzorky by se neměly používat. Vzorky s

abnormálně zvýšenou hladinou hemoglobinu nebo bilirubinu mohou ovlivnit provedení a citlivost testu.

POPIS ZAŘÍZENÍ



POSTUP ANALÝZY

Je důležité, aby se pipetované objemy a doba inkubace dodržovaly přesně podle popisu v tomto postupu. Pro každou dávku jsou nabízeny dvě metody měření. Metoda **suPARnosticQT** začne měřit hladinu suPAR po stisknutí tlačítka „dále“. Metoda **suPARnosticQT20** měří hladinu suPAR 20 minut po stisknutí tlačítka „dále“. To umožňuje uživateli vložit test do čtečky během inkubace a zajistit správnou dobu inkubace.

suPARnosticQT	suPARnosticQT20
1. Přeneste 100 µl elektroforetického pufru do prázdné zkumavky.	
2. Přeneste 10 µl vzorku plazmy do zkumavky obsahující 100 µl elektroforetického pufru. Směs promíchejte vířivým pohybem nebo pipetou nahoru a dolů.	
3. Přeneste 60 µl naředěného vzorku do jamky testu suPARnostic® Quick Triage.	
4. Před nahráním metody inkubujte test 20 minut na stole a poté vložte test do čtečky aLF Reader. <i>(Pokud uživatel NENÍ přítomen během inkubace, doporučuje se použít suPARnosticQT20).</i>	4. Naskenujte čárový kód metody suPARnosticQT20. Vložte test do čtečky aLF Reader pro inkubaci a stisknutím tlačítka „dále“ aktivujte 20minutovou inkubaci.
5. Stisknutím tlačítka „dále“ přečtete test pomocí čtečky aLF Reader. Použijte určenou dávkovou metodu.	5. Čtečka aLF Reader přečte test automaticky po 20 minutách.

PROVÁDĚNÍ TESTU

1. Pro spuštění nového testu stiskněte na dotykovém displeji tlačítko „New Test“ („Nový test“).
2. Pomocí interního snímače 2D čárového kódu na čtečce aLF Reader naskenujte čárový kód **suPARnosticQT** nebo **suPARnosticQT20** dodaný v sadě v závislosti na preferované metodě měření.
3. Na obrazovce se automaticky zobrazí název testovací metody (1), identifikační kód (ID) šarže (3) a nastavení vzorku (5-7).
4. Naskenujte 2D čárový kód s identifikačním kódem (ID) pacienta nebo napište identifikační kód pacienta ručně.



5. Otevřete přihrádku na pravé straně čtečky. Po přidání vzorku pacienta vložte test tak, aby identifikační kód pacienta byl vlevo a jamka se vzorkem vpravo.
6. Stisknutím tlačítka „dále“ pokračujte a potvrďte, že kazeta byla vložena ve správné orientaci.
7. Výsledek suPAR se zobrazí v ng/ml.
8. Hodnota suPAR by měla být v rozmezí 2-15 ng/ml. Pokud je výsledek mimo toto rozmezí, zobrazí se jako <2,0 ng/ml nebo >15 ng/ml a hodnotu nelze považovat za správnou a přesnou. Pokud se na displeji zobrazí INVALID (NEPLATNÝ), došlo během měření k chybě. Provedte analýzu vzorku znovu, a pokud je výsledek opět NEPLATNÝ, podívejte se do rozsáhlého návodu na internetu nebo kontaktujte společnost ViroGates za účelem podpory na telefonním čísle +45 2113 1336 nebo e-mailem na adrese info@virogates.com

KONTROLA KVALITY

Test suPARnostic® Quick Triage používá kontrolní čárku jako interní kontrolu kvality. Výsledek je chybný, pokud se po jinak úspěšném průchodu vzorku plazmy na testu neobjeví kontrolní čárka.

Čtečka aLF Reader automaticky zobrazí, zda během měření došlo k nějaké chybě. Čtečka má funkci interní

kontroly kvality, která se provádí při každém zapnutí čtečky.

VÝPOČET VÝSLEDKŮ

Aby byly získány správné hodnoty, musí být se čtečkou aLF Reader použit test suPARnostic® Quick Triage. Uživatel nemůže vyhodnotit výsledky vizuální kontrolou testu Quick Triage. Čtečka aLF Reader provádí výpočet hladin suPAR automaticky.

Čtečka aLF Reader naskenuje testovací a kontrolní čárku a určí intenzitu čárek. Výpočet pro odhad hodnoty suPAR vychází z testovací čárky. Čtečka aLF Reader používá pro každou dávku testů Quick Triage specifickou metodu výpočtu. Metoda specifická pro danou dávku je součástí sady testu jako QR kód. Metoda obsahuje kalibrační křivku, kterou čtečka používá k převodu intenzity testovací čárky na údaj ng/ml suPAR.

Matematický výpočet se provádí pomocí lineární křivky na základě 6 referenčních vzorků se známou koncentrací a vzorku obsahující pouze pufr.

OMEZENÍ TESTU

Klinická diagnóza by neměla být založena pouze na výsledku testu suPARnostic® Quick Triage. Interpretace výsledků musí být provedena s ohledem na klinickou anamnézu pacienta a výsledky jiných diagnostických testů, pokud jsou k dispozici.

Níže uvedené látky byly testovány na interferenci s testem suPARnostic® Quick Triage. Žádná z testovaných látek neovlivnila provedení testu.

Látka	Koncentrace mmol/l
Bilirubin	0,10 – 0,50
Hemoglobin	0,00 – 0,94
Triglyceridy	0,00 - 23

Rheumatoidní faktory:

Byly analyzovány vzorky od 16 pacientů se zvýšenou koncentrací rheumatoidního faktoru v rozmezí 0-1600 kIU/l. Nebyla zjištěna žádná významná korelace s revmatickými faktory (R²=0,33).