

Rychlý kvalitativní test k určení nástupu předčasného porodu nebo potratu v případech, kdy jsou ještě plodové obaly neporušeny (detekce fosforylovaného IGFBP-1).

Provedení: Actim Partus (Fosforylovaný IGFBP-1) - proužek
Kat. číslo: 31931

Vyrábí: Oy Medix Biochemica Ab
Kauniainen, Finsko
C E

Distribuuje: inlab medical s.r.o. **ČSN EN ISO 9001:2001**
Kubelíkova 1779/23, 130 00, Praha 3-Žižkov
Telefon/Fax: (+420) 222721023, 222721025,
222721032
e-mail: inlab@inlab.cz
www.inlab.cz

Určeno pro diagnostické účely in vitro!

POUŽITÍ TESTU

Partus - proužek test detekuje přítomnost fosforylované formy IGFBP-1 (insulin-like growth factor binding protein-1) v cervikální sekreci. Používá se k určení náchylnosti nebo předpovědi předčasného porodu nebo nástupu porodu v době, kdy jsou ještě plodové obaly neporušeny. (Neporušenost plodových obalů se potvrzuje negativním výsledkem testu INLAB proužek PROM test, který je určen k detekci nastupujícího porodu, protože plodová voda a mateřská krev obsahuje velké množství nefosforylované formy IGFBP-1, kterou tento test detekuje.)

VÝZNAM A PŘEDNOSTI TESTU

IGFBP-1 (insulin-like growth factor binding protein-1) je ve velkém množství obsažen v plodové vodě. V jiných tělesných tekutinách se vyskytuje v mnohem menších koncentracích. Je syntetizován sliznicí dělohy těhotných žen a také v játrech. Vyskytuje se v různých fosforylovaných izoformách. Bylo zjištěno, že slizniční buňky dělohy těhotných žen a lidská játra vylučují převážně fosforylovanou formu IGFBP-1, zatímco plodová voda, fetální sérum a mateřská plazma obsahují značné množství nefosforylované formy IGFBP-1.

Když se přibližuje porod, plodové obaly se začínají oddělovat od stěny děložní sliznice (decidua parietalis) a přitom se malé množství fosforylované formy IGFBP-1 dostává do sekretu děložního hrdla. K odběru vzorku se při použití INLAB proužek Partus testu používá odběrová tyčinka s dakronovým tamponem, který se pak extrahuje v elučním pufru. Přítomnost fosforylované formy IGFBP-1 se prokáže pomocí imunochromatografického proužku, jehož spodní část se na určenou dobu vloží do elučního pufru se vzorkem.

PRINCIP TESTU

Test Partus - proužek je založen na imunochromatografické detekci lidského fosforylovaného IGFBP-1, který se prokazuje pomocí dvou monoklonálních protilátek proti lidské, fosforylované formě IGFBP-1. Jedna protilátka (detekční) je navázána na modré latexové částice, druhá je fixována na určeném místě nosné membrány v pozici pro test, kde na sebe může (v případě přítomnosti fosforylované formy IGFBP-1) vázat vzniklý komplex: fosforylovaný IGFBP-1 - protilátka, navázaná na modré latexové částice.

Test se provádí vložením testovacího proužku do elučního pufru se vzorkem cervikální sekrece. Při ponoření spodní části proužku absorbuje tato část proužku roztok, který postupně vzlíná směrem nahoru. Pokud tento roztok obsahuje fosforylovaný IGFBP-1, váže se na protilátku, kterou jsou potaženy modré latexové částice. Tyto částice se pomocí kapilárního průtoku pohybují směrem ke druhé protilátce, fixované v pozici pro test, na které jsou další vazbou zadrženy. Za předpokladu, že koncentrace fosforylované formy IGFBP-1 přesahuje detekční limit (cut-off) objeví se na tomto indikačním místě modrá linie, která znamená pozitivní výsledek. Druhá

modrá linie (kontrolní) potvrzuje správné provedení a správnou funkci testu a objevuje se i v případě negativního výsledku.

SLOŽENÍ SOUPRAVY

1. Balení s potřebami k provedení 10 samostatných testů. Každé balení obsahuje 1 nádobku s 0,5 ml elučního pufru (tris-fosfátový pufr, hovězí sérový albumin, detergent, inhibitory proteáz a konzervační látku), sterilní odběrovou tyčinku (s dakronovým tamponem), testovací imunochromatografický proužek v samostatném obalu se sušidlem a schéma k provedení testu. *Poznámka: Tato balení mohou být také dodávána samostatně.*
2. Návod k provedení testu.

Hygienická a bezpečnostní upozornění:

Test je určen pouze k diagnostickým účelům in vitro.

Provedení testu je hygienické. Použitou odběrovou tyčinku (po eluci v pufru) vložte zpět do původního obalu a odložte do odpadního kontejneru. Po odečtení výsledku odložte nádobku a testovací proužek do kontejneru, jehož obsah je určen k likvidaci (spalovna).

Biologický materiál lidského nebo zvířecího původu může obsahovat infekční agens, proto je nutné zacházet s ním jako s potenciálně infekčním a varovat se kontaktu s ním. Při zacházení se vzorky a při likvidaci všech zbytků dodržujte obecné a interní pokyny laboratoře.

SKLADOVÁNÍ SOUPRAVY

Soupravu skladujte při teplotě 2 - 8 °C, ve správné pozici. Všechny složky soupravy jsou stabilní až do data expirace, které je uvedeno na štítku soupravy a komponent.

Před odebráním testovacího proužku z jeho obalu je nutné ponechat uzavřený obal s proužkem k vytemperování na teplotu 15 - 25 °C. Po odebrání proužku z obalu použijte proužek k testování okamžitě, protože vlhkost prostředí jej může znehodnotit.

CITLIVOST TESTU

Detekční limit (cut-off) fosforylovaného IGFBP-1 v extrahovaném vzorku je asi 10 µg/l. Kalibrace byla provedena standardizací na afinitně čištěnou fosfoformu IGFBP-1 získanou z deciduálního extraktu (A^{1%} při 280 nm = 13,6). Tato koncentrace poskytuje za 5 minut slabě pozitivní výsledek.

Koncentrace fosforylovaného IGFBP-1 v extrahovaném vzorku vyšší než 30 µg/l poskytuje silně pozitivní výsledek.

Pozitivní výsledek testu ve vzorku bez přítomnosti krve naznačuje, že plodový obal se odděluje od děložní sliznice a v sekreci hrdla dělohy je přítomný fosforylovaný IGFBP-1.

ODBĚR VZORKU

Vzorek sekretu děložního hrdla se odebírá pomocí sterilní odběrové tyčinky s dakronovým tamponem, který je součástí balení. Tampon se na místě ponechá po dobu 10 - 15 sekund, aby absorboval dostatečné množství sekretu.

Po vyjmutí tamponu se sekret eluuje v elučním pufru.

Schéma extrakce tamponu do pufru:



1. Odšroubujte víčko nádoby s elučním pufrém. Odběrovou tyčinku s tamponem vložte do elučního pufru a otáčivým pohybem opakovaně extrahujte (vymáčkávejte oproti stěně nádoby) obsah tamponu do pufru. Vzorek má být testován co nejdříve po odběru; v žádném případě nesmí být tato doba delší než 4 hodiny. Nemůže-li být vzorek v této době testován, musí být zmrazen a testován až po rozmrazení.
2. Použitou odběrovou tyčinku pak vložte do původního obalu a odložte do kontejneru, jehož obsah je určen k likvidaci.

PROVEDENÍ TESTU

Před otevřením fólie s testovacím proužkem je nutné ponechat uzavřenou fólii k vytemperování na laboratorní teplotu.

Schéma testovacího proužku:

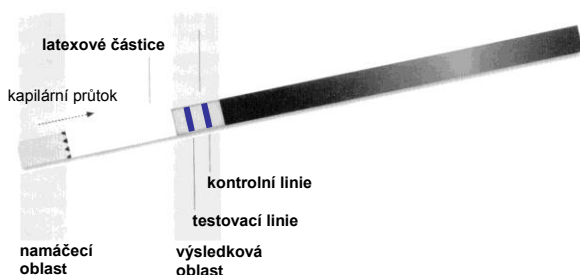
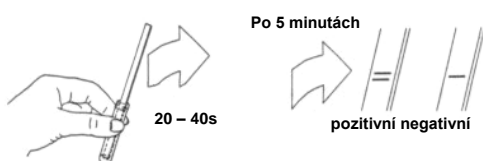


Schéma provedení testu:



1. Roztrhněte obal a proužek vyjměte. *Nedotýkejte částí proužku, které přicházejí do styku se vzorkem. Identifikaci vzorku je možné provést popísem na fialové části proužku.*
2. Testovací proužek vložte do nádoby s extrahovaným vzorkem tak, aby hladina sahala ke konci žlutého zbarvení. Sledujte vztlínání kapaliny po dobu, až dosáhne k začátku indikační oblasti (asi 20 - 40 sekund). Začněte měřit čas.
3. Proužek potom z nádoby vyjměte a položte jej na vodorovnou, suchou a čistou podložku. Výsledek testu odečtete za 5 minut.

VÝSLEDEK TESTU

Vzorek může být označen jako **pozitivní** již za dobu, kdy se stanou viditelnými dvě modré linie. Konečné odečtení výsledku (u vzorků s nižšími koncentracemi) je třeba provádět až za 5 minut.

Jestli-že se po 5 minutách objeví pouze 1 modrá linie (kontrolní), výsledek testu je **negativní**.

Neobjeví-li se žádná modrá linie, test je **nehodnotitelný** (testovací proužky jsou znehodnoceny).

OMEZENÍ POUŽITELNOSTI TESTU

Před provedením Partus - proužek testu je doporučováno ujistit se o neporušenosti plodových obalů (pomocí negativního výsledku PROM - proužek testu), protože při prasklých plodových obalech dává Partus - proužek test také pozitivní výsledky.

Přítomnost moči a semenné plazmy ve vzorku neinterferují s provedením testu.

Fosforylovaná forma IGFBP-1 se rovněž nachází v lidském séru, proto vzorky s příměsí krve poskytují také pozitivní reakci. Z těchto důvodů se doporučuje odebírat vzorek až po zastavení krvácení a ještě se přesvědčit, že vzorek krev neobsahuje.

POZNÁMKY

- K přesnému provedení testu je potřeba přibližně 150 µl extrahovaného vzorku.
- Ponoření spodní části proužku do nádoby se vzorkem vyžaduje opatrnost. Další části proužku nesmí přijít do přímého kontaktu se vzorkem.
- Nepoužívejte proužek, který má již v indikační části vyvinuté modré linie.
- Negativní výsledek testu je třeba odečítat v čase 5 minut. Velmi jemná linie, která se objeví po 5 - 10 minutách, nemůže být interpretována jako pozitivní, protože koncentrace fosforylované formy IGFBP-1 je nižší než detekční limit (cut off) testu.
- Při ponoření proužku do elučního pufru se vzorkem dbejte na to, aby hladina sahala přesně po vyznačené místo a proužek vyjměte teprve, až vztlínající tekutina dosáhne hranice indikační, odečítací části proužku. Proužek neponechávejte ve vzorku příliš dlouho. Přesnost testu se snižuje nadměrným nebo nedostatečným nasátím tekutiny.
- Pozitivní linie se nachází v nižší pozici odečítací plochy proužku, kontrolní se nachází ve vyšší pozici. Vývin zbarvení kontrolní linie potvrzuje správnost provedení testu. Pokud se tato linie neobjeví, test je nehodnotitelný. V tomto případě opakujte test s novým proužkem.
- Stejně jako jiné diagnostické testy, musí být i tento test interpretován spolu s dalšími klinickými nebo laboratorními nálezy.

LITERATURA

Frost RA, Tseng L. Insulin-like growth factor-binding protein-1 is phosphorylated by cultured human endometrial stromal cells and multiple protein kinases in vitro. J Biol Chem (1991) 266: 18082-18088.

Rutanen E-M, Pekonen F, Karkkainen T. Measurement of insulin-like growth factor-binding protein-1 in cervical/vaginal secretions: comparison with the ROM-check Membrane Immunoassay in the diagnosis of ruptured fetal membranes. Clinica Chimica Acta (1993) 214: 73-81.

Koistinen R, Angervo M, Leinonen P, Hakala T, Seppala M. Phosphorylation of insulin-like growth factor-binding protein-1 increases in human amniotic fluid and decidua from early to late pregnancy. Clinica Chimica Acta (1993) 215: 189-199.

Test byl velmi rozsáhle klinicky testován. Získané výsledky jsou předmětem mnoha publikací, které můžeme vážným zájemcům na požádání poskytnout