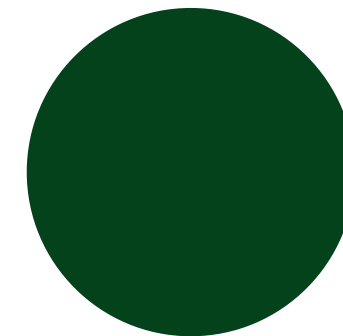
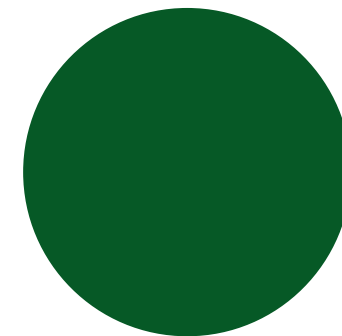
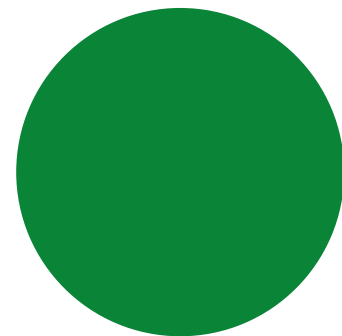
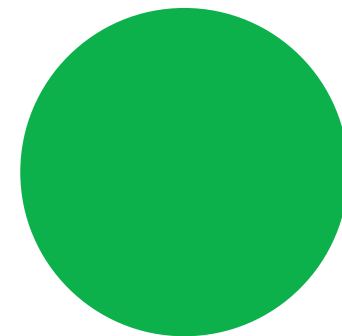


# WITAMY

Na prezentacji EUROIMMUN



# Właściwe przygotowywanie i rozwiązywanie ewentualnych problemów związanych z testami typu BLOT

---

Imię i nazwisko Prelegenta

EUROIMMUN Polska

# Plan prezentacji

---

1 Czynniki wpływające na wyniki testów typu immunoblot

2 EUROLINE

3 Westernblot

# Plan prezentacji

---

1 Czynniki wpływające na wyniki testów typu immunoblot

2 EUROLINE

3 Westernblot

# Czynniki wpływające na wyniki testów typu immunoblot

---

## Czynniki mogące prowadzić do nieprawidłowych wyników

- Sposób przechowywania odczynników
- Rozcieńczenie surowicy
- Sposób pipetowania
- Proces inkubacji pasków/szkiełek
- Odczyt wyników



# Przechowywanie a stabilność odczynników

---

## Zestaw testowy

- Odczynniki powinny być przechowywane w temperaturze +2°C do +8°C. Odczynników nie wolno zamrażać!!!
- Prawidłowo przechowywane i niezanieczyszczone odczynniki są stabilne przez okres 1 roku od daty produkcji
- Rozcieńczony bufor i koniugat enzymatyczny powinny zostać użyte w ciągu 1 dnia roboczego

## Próbki surowicy

- Badany materiał powinien być przechowywany do 14 dni w +2°C do +8°C
- Przechowywanie próbek przez okres dłuższy niż 14 dni powinno odbywać się w -20°C
- Częste zamrażanie i rozmrażanie skutkuje utratą aktywności przeciwciał



# Przechowywanie a stabilność odczynników

---

## Zestaw testowy

- Odczynniki powinny być przechowywane w temperaturze +2°C do +8°C. Odczynników nie wolno zamrażać!!!
- Prawidłowo przechowywane i niezanieczyszczone odczynniki są stabilne przez okres 1 roku od daty produkcji
- Rozcieńczony bufor i koniugat enzymatyczny powinny zostać użyte w ciągu 1 dnia roboczego

## Próbki surowicy

- Badany materiał powinien być przechowywany do 14 dni w +2°C do +8°C
- Przechowywanie próbek przez okres dłuższy niż 14 dni powinno odbywać się w -20°C
- Częste zamrażanie i rozmrażanie skutkuje utratą aktywności przeciwciał



# Przygotowanie zestawu testowego

---

## Zalecenia ogólne

- Przed otwarciem zestawu testowego należy sprawdzić datę ważności - Nie należy używać testów po dacie ważności!
- Odczynniki powinny osiągnąć temperaturę pokojową, jest to bardzo ważne szczególnie dla roztworu substratu
- Po zakończeniu pracy, odczynniki powinny być przechowywane z powrotem w temperaturze +2°C do +8°C
- Nie wolno otwierać torebki z paskami/szkiełkami zanim nie osiągną temperatury pokojowej (ryzyko zawilgocenia)

## Odczynniki

- Rozcieńcz bufor płuczący używając wody destylowanej (nigdy nie używaj wody wodociągowej!)



## Zalecenia ogólne

- Pipety powinny być regularnie kalibrowane
- Używaj pipet o odpowiednim zakresie objętości (np. nie używaj pipety 1 ml do pipetowania 10  $\mu$ l!)
- Nie pipetuj objętości mniejszych niż 5  $\mu$ l
- Używaj odpowiednich końcówek do pipet
- Nie pipetuj jedną końcówką różnych odczynników (zanieczyszczenia)
- Nie używaj ponownie tych samych końcówek do pipet (nawet uprzednio wyczyszczonych!)
- Nie dotykaj końcówek do pipet bez rękawiczek ochronnych

# Badane próbki

---

## Rozcieńczenie surowicy

- Dokładnie wymieszaj surowicę i bufor do próbek przed rozcieńczeniem
- Używaj właściwego buforu do próbek
- Nigdy nie rozcieńczaj próbek wodą
- Po dodaniu próbki do buforu, wymieszaj dokładnie przez vorteksowanie (np. 5 sekund)
- Wymieszaj rozcieńczoną surowicę ponownie, bezpośrednio przed badaniem

# Inkubacja

---

## Czas inkubacji

- Przestrzegaj właściwego czasu inkubacji (zgodnie z instrukcją)

## Temperatura inkubacji

- Przestrzegaj właściwej temperatury inkubacji (+18°C do +25°C)
- Zbyt wysoka temperatura □ zwiększona aktywność enzymu
- Zbyt niska temperatura □ zmniejszona aktywność enzymu



# Odczyt wyników

---

## Tylko prawidłowe przeprowadzenie testu pozwala na wydanie wyniku

- Paski przed odczytem powinny zostać wysuszone
- Sprawdź intensywność pasma kontrolnego
- Sprawdź sygnał kontroli pozytywnej i negatywnej

# Plan prezentacji

---

1 Czynniki wpływające na wyniki testów typu immunoblot

2 **EUROLINE**

3 Westernblot

## Inkubacja - wykonanie

- Używaj kołyski laboratoryjnej
- Używaj tylko czystych, NIEUŻYWANYCH rynienek inkubacyjnych
- Paski muszą być pokryte roztworem
- Aby uniknąć zanieczyszczeń, odciągaj rozcieńczoną surowicę za pomocą pipety
- Po zakończeniu inkubacji, umieść paski na plastikowej folii uprzednio przyklejonej na protokół. Paski muszą zostać przyklejone w odpowiednim miejscu, osusz delikatnie paski ręcznikiem papierowym

## Inkubacja - odczynniki

- Przed użyciem odczynniki powinny osiągnąć temperaturę pokojową
- Po wyjęciu pasków zamknij torebkę ochronną
- Nie wyrzucaj torebki chłonej wilgoć
- Kontrole tak jak surowice pacjentów muszą być rozcieńczone

# EUROLINE – A co jeśli .....

---

## ... pojawi się ciemne fioletowe tło

- Powtórne użycie tej samej rynienki inkubacyjnej
- Namnożenie bakterii w badanych próbkach
- Nieprawidłowe płukanie próbek
- Zamiana buforu do próbek z buforem płuczającym



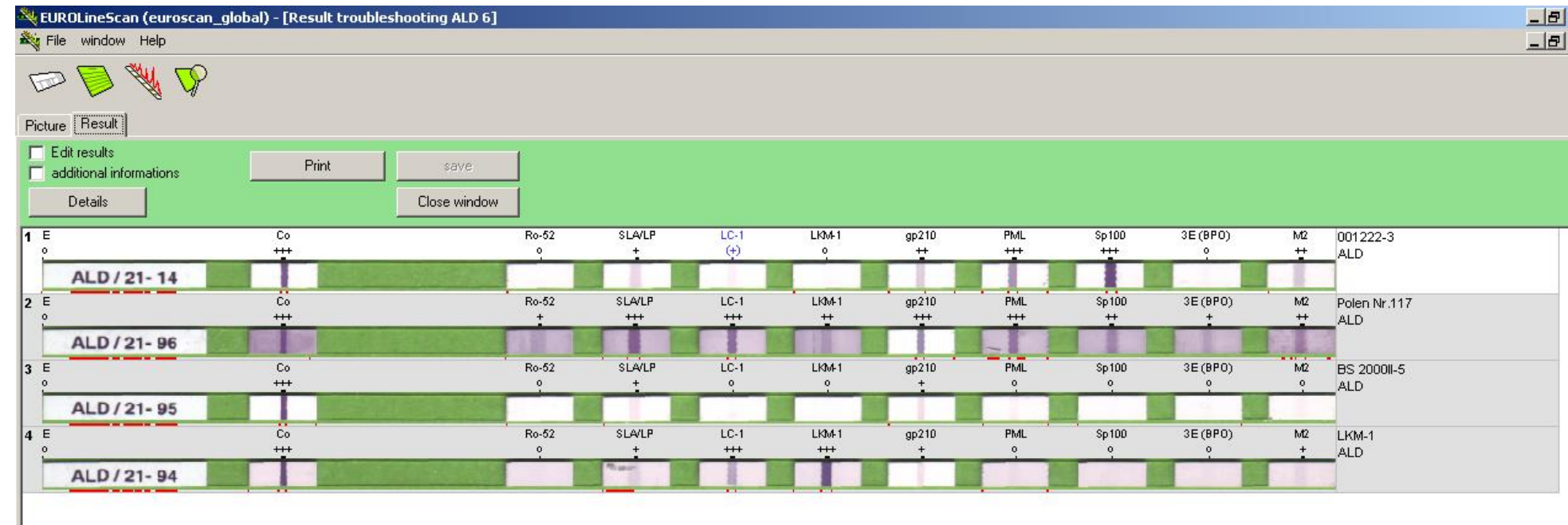
# EUROLINE – A co jeśli .....

## Bufor płuczący zamiast buforu do próbek ANA Profile 3



# EUROLINE – A co jeśli .....

Bufor płuczący zamiast buforu do próbek ALD Profile



# EUROLINE – A co jeśli .....

---

## ... białe pasmo pojawi się w pozycji dsDNA

- Próbkę dają ciemne zabarwienie z powodu niespecyficznego reakcji; tło nie pojawia się natomiast w pozycji dsDNA prawdopodobnie z powodu wysokiego stężenia ładunków negatywnych na tym paśmie

## Jak interpretować?

- Białe pasmo w pozycji dsDNA należy traktować jako negatywne

# Plan prezentacji

---

1 Czynniki wpływające na wyniki testów typu immunoblot

2 EUROLINE

3 Westernblot

# Westernblot

---

## Inkubacja - wykonanie

- Używaj kołyski laboratoryjnej
- Używaj tylko czystych, NIEUŻYWANYCH studzienek inkubacyjnych
- Paski muszą być pokryte roztworem
- Aby uniknąć zanieczyszczeń, odciągaj rozcieńczoną surowicę za pomocą pipety
- Po zakończeniu inkubacji, umieść paski na plastikowej folii uprzednio przyklejonej na protokół. Paski muszą zostać przyklejone w odpowiednim miejscu, osusz delikatnie ręcznikiem papierowym

# Westernblot

---

## Inkubacja - odczynniki

- Przed użyciem odczynniki powinny osiągnąć temperaturę pokojową
- Po wyjęciu pasków zamknij torebkę ochronną
- Nie wyrzucaj torebki chłonej wilgoć
- Kontrole tak jak surowice pacjentów muszą być rozcieńczone

# Westernblot

---

## Odczyt wyników

- Sprawdź odpowiednie pasma kontrolne
- Wszystkie wybarwione pasma podlegają interpretacji
- Użyj prawidłowego szablonu do oceny

# Westernblot

---

## Odczyt wyników

### Serologia infekcji

- Westernblot jest często używany jako test potwierdzenia testu skryningowego
- Westernblot jest metodą niezależną, wyniki mogą być interpretowane bez brania pod uwagę innych metod

### Oznaczanie autoprzeciwciał

- Westernblot nie jest metodą niezależną: nie można interpretować wyników bez brania pod uwagę testu skryningowego - IIFT (wyjątek: SLA/LP). Pasma o tej samej lub zbliżonej masie cząsteczkowej mogą zostać źle zinterpretowane.
- Westernblot jest używany jako test potwierdzenia testu skryningowego autoprzeciwciał





# Wysoka jakość testów immunoblot EUROIMMUN

---

Wszystkie testy typu immunoblot firmy EUROIMMUN są poddawane intensywnej kontroli jakości pod kątem:

- Powtarzalności
- Odtwarzalności
- Stabilności

**Czułość i specyficzność** oznaczane są za pomocą scharakteryzowanych surowic pacjentów jak również zdrowych dawców krwi

**Laboratorium Referencyjne dr Stöckera** przeprowadza rutynową diagnostykę na testach EUROIMMUN każdego dnia

# DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ

Zapraszam do kontaktu

