

Kód 44558	48 testů	Kód 44648	96 testů	AUTOPROTILÁTKY - RL/RK/RS (AA - RL/RK/RS) Nepřímá imunofluorescence Krysí játra/ledviny/žaludek
Kód 44570	12x4 testů	Kód 44639	12x8 testů	
Skladovat při 2 - 8°C				
Reagenty pro kvalitativní stanovení autoimunitních protilátek. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.				

PRINCIP METODY

Anti-nukleární (ANA), anti-mitochondriální (AMA), anti-hladká svalovina (ASMA), anti-parietální buňky (APCA), jaterní-ledvinové mikrosomy (LKM), anti-retikulín a další protilátky v séru se vážou na odpovídající antigeny přítomné v preparátu obsahujícím krysí játra, ledviny a žaludek. K detekci komplexu antigen-protilátka je použito sérum s anti-human imunoglobulinem značeným fluoresceinem. Vyhodnocení se provádí fluorescenčním mikroskopem¹.

OBSAH

	KÓD 44558	KÓD 44648
A.	Sklička	12 x 4 testy
B.	PBS (10x)	1 x 100 mL
C+	ANA-Ho Pozit. kontrola	1 x 0,3 mL
C+	AMA Pozitivní kontrola	1 x 0,3 mL
C+	ASMA Pozitivní kontrola	1 x 0,3 mL
C-	Negativní kontrola	1 x 0,3 mL
D.	FITC/Evans (R)	1 x 3,5 mL
E.	Montovací medium	1 x 3 mL
	Odsávací papír	1 x 12

	KÓD 44570	KÓD 44639
	Sklička	12 x 4 testy
		12x8 testů

SLOŽENÍ

- A. Sklička:** Řezy kryších jater, ledvin a žaludku.
- B. PBS (10x):** Fosforečnan sodný 112,5 mmol/L, fosforečnan draselný 30 mmol/L, chlorid sodný 1,15 mol/L, azid sodný 0,95 g/L. pH 7,2.
- C+. ANA-Ho Pozitivní kontrola:** Lidské sérum obsahující anti-nukleární protilátky (ANA) homogeního zobrazení, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. AMA Pozitivní kontrola:** Lidské sérum obsahující antimitochondriální protilátky (AMA), azid sodný 0,95 g/L.
- C+. ASMA Pozitivní kontrola:** Lidské sérum obsahující protilátky proti hladké svalovině, azid sodný 0,95 g/L.
- C-. Negativní kontrola:** Lidské sérum, azid sodný 0,95 g/L.
- D. FITC/Evans(R):** Kozí anti-human imunoglobulin konjugované s fluorescein izothiokyanátem (FITC) a navázané na krysí sérum, Evansova modř 0,01 g/L, azid sodný 0,95 g/L.
- E. Montovací medium:** Mowiol 12%, Glycerol 30%, Tris 20 mmol/L, azid sodný 0,95 g/L.
- F. Odsávací papír** - blotovací papír

Lidská séra použitá při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a shledána negativní na přítomnost protilátek anti-HIV a anti-HCV, a stejně tak na HBs antigen. Nicméně zacházejte s kontrolami jako s potenciálně infekčním materiálem.

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2-8°C. Reagenty jsou stabilní do data expirace uvedené na štítku, jestliže jsou skladovány uzavřené a je zabráněno jejich kontaminaci v průběhu používání.

Známky zhoršení kvality:

- Kapalné komponenty: Přítomnost částic, zákal
- Sklička: natržení sáčku, makroskopické defekty na řezech tkání, jako je poškrábání nebo sloupenutí.

POMOCNÉ REAGENTY

B. PBS (10x)

D. FITC/Evans(R) - krysí konjugát s Evansovou modří.

E. Montovací medium

C+. ANA-Sp Pozitivní kontrola : Lidské sérum obsahující Anti-nukleární protilátky, zrnité zobrazení, Azid sodný 0,95 g/L.

C+. ANA-Nu Pozitivní kontrola : Lidské sérum obsahující Anti-nukleolární protilátky, nukleolární zobrazení, Azid sodný 0,95 g/L.

C+. APCA Pozitivní kontrola : Lidské sérum obsahující Anti- parietální protilátky, Azid sodný 0,95 g/L.

C+. LKM Pozitivní kontrola: Lidské sérum obsahující anti liver/ kidney mikrosomální protilátky (LKM), Azid sodný 0,95 g/L.

C+. ANA-Ho Pozitivní kontrola : Lidské sérum obsahující Anti-nukleární protilátky, homogení zobrazení, Azid sodný 0,95 g/L.

C+. AMA Pozitivní kontrola : Lidské sérum obsahující Anti-mitochondriální protilátky, Azid sodný 0,95 g/L.

C+. ASMA Pozitivní kontrola (kód 44522): Lidské sérum obsahující protilátky proti hladké svalovině, Azid sodný 0,95 g/L.

C-. Negativní kontrola

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

PBS: Naředte reagent B 1/10 destilovanou vodou. Stabilita 1 týden při 2-8°C. Ostatní reagenty jsou ready to use.

PŘIDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- Zvlhčovací komůrka
- Promývací nádoba
- Krycí sklička 24 x 60 mm
- Fluorescenční mikroskop s excitačním filtrem 495 nm a 525 nm emisním filtrem pro FITC vizualizaci.

VZORKY

Sérum nebo plazma odebraná standardním postupem. Stabilita po dobu 1 týdne při 2-8°C.

Před testováním zředte vzorek 1/20 v PBS (Viz. příprava reagentu). K titraci pozitivních vzorků ředte dvojkovou řadou v PBS, přičemž začnete ředěním 1/20.

PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte reagenty a vzorky na pokojovou teplotu.
2. Kápněte 1 kapku (50 µL) naředěného vzorku, nebo kontroly do každé jamky s tkáňovým řežem. Ujistěte se, že řež je kompletně pokrytý. (Poznámka 1).
3. Inkubujte sklička 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
4. Vysušte skličko opatrným nakloněním a poklepáním o filtrační papír. Zabraňte zkřížené kontaminaci mezi vzorky.

Kód 44558	48 testů	Kód 44648	96 testů	AUTOPROTILÁTKY - RL/RK/RS (AA - RL/RK/RS) Nepřímá imunofluorescence Krycí játra/ledviny/žaludek
Kód 44570	12x4 testů	Kód 44639	12x8 testů	
Skladovat při 2 - 8°C				
Reagenty pro kvalitativní stanovení autoimunitních protilátek. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.				

- Opláchněte krátce v lehkém proudu PBS (viz. příprava reagentu) (Pozn. 2).
- Sklička dostatečně promyjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.
- Opatrně skličko osušte s použitím speciálního odsávacího papíru. Jamky nevysušujte, musí zůstat vlhké po celou dobu procedury.
- Do každé jamky přidejte 1 kapku reagentu D. Sklička inkubujte po dobu 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) ve zvlhčovací komůrce.
- Promyjte podle bodu 6 a osušte podle bodu 7.
- Přidejte do každé jamky několik kapek reagentu E a opatrně přikryjte krycím skličkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČÍTÁNÍ

Sklička vyhodnocuje fluorescenčním mikroskopem (zvětšení 250-400x). Pro lepší výsledky sklička vyhodnocuje okamžitě. Pro odečet zvolte vnitřní část tkáňového řezu. Intenzita fluorescence v okrajích není charakteristická. Jestliže najdete specifický fluorescenční obraz, který je níže popsán při doporučeném ředění vzorku, lze mluvit o pozitivním výsledku.

ANA-homogenní: Homogenní, rovnoměrná fluorescence ve všech částech jádra buněk v interfázi. Silná fluorescence buněk v mitóze.

AMA: Granulární fluorescence mitochondrií v cytoplasmě tubulárních buněk ledvin.

ASMA: Fluorescence svalové mukózy, svalových vrstev cév a interglandulárních vláken krycího žaludku.

APCA: Retikulární nitroboněčné zbarvení parietálních buněk krycí žaludeční sliznice.

LKM: Typ I. Silně fluoreskující cytoplazma hepatocytu a proximální tubuly v ledvinách. Negativní distální tubuly.

Pozitivní séra lze titrovat. Titr séra je definován jako nejvyšší zředění dávající pozitivní výsledek. Není-li pozorována žádná typická fluorescence, výsledek je negativní pro tyto protilátky.

KONTROLA KVALITY

Pozitivní kontrola (C+) a Negativní kontrola (C-) zakoupená se soupravou kód 44558 a 44648 by měla být testována společně se vzorkem pacienta, aby se verifikovala pravdivost zkoušky.

Pozitivní kontrola (C+) by měla vykazovat výše popsaný specifický obraz.

Negativní kontrola (C-) by neměla dávat žádný specifický obraz.

Každá laboratoř by si měla stanovit svojí vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, když kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

CHARAKTERISTIKA TESTU

FITC/Evans(R) je kalibrován proti WHO mezinárodnímu standardu pro FITC značenému ovcímu anti-human imunoglobulinu.

Specifita ANA-Ho Pozitivní kontroly byla ověřena proti AF/CDC-1 referenčnímu séru z Centra pro kontroly onemocnění/Arthritis Foundation.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

ANA: Citlivost stanovení antinukleárních protilátek je vyšší než 95% při onemocnění SLE, i když specifita je docela nízká².

AMA: Přítomnost antimitochondriálních protilátek je spojená s primární biliární cirhózou u více než 95% pacientů^{2,3}.

ASMA: Protilátky proti hladké svalovině nacházíme v sérech

M44558i-26

02/2017

BioSystems S.A. Costa Brava, 30. 08030 Barcelona (Spain)

Quality System certified according to
EN ISO 13485 and EN ISO 9001 standards

Český překlad 12/2017/VE

52-85% pacientů s autoimunitní aktivní chronickou hepatitidou a u 22% pacientů s primární biliární cirhózou^{5,6}.

APCA: Protilátky proti žaludečním parietálním buňkám nacházíme u 90% pacientů s perniciózní anémií, jenž je obvykle spojena s dalšími tkáňově specifickými autoimunitními onemocněními⁷.

LKM: Anti-LKM protilátky typu I jsou markery autoimunitní hepatitidy typu II⁸.

BioSystems souprava RL/RK/RS byla testována 188 séry pacientů s různými autoimunitními onemocněními a séry zdravých dárců. Výsledky jsou popsány níže:

Onemocnění	n	ANA	AMA	ASMA
<i>Jaterní onemocnění</i>	46	-	41	17
Primární biliární cirhosa	24	-	22	5
Colangitida	10	-	8	4
<i>Autoimunitní hepatitida</i>	12	-	11	8
<i>Onemocnění pojivových tkání</i>	93	93	-	-
Systémový lupus erythematosus	31	31	-	-
Sjögrensonův syndrom	11	11	-	-
Sclerodermie	7	7	-	-
CREST syndrom	3	3	-	-
Rheumatoidní artritida	11	11	-	-
Dermatopolymyositida	2	2	-	-
Ostatní	28	28	-	-
<i>Ostatní Autoimunitní onemocnění</i>	25	0	0	0
Megaloblastická anaemie	3	0	0	0
Celiakie	7	0	0	0
Thyroiditida	9	0	0	0
Good Pasture syndrom	2	0	0	0
Other (vasculitis, AFL)	4	0	0	0
Zdraví dárci	24	0	0	0

Klinická diagnóza by neměla být uzavřena jen na základě výsledků jednoho testování, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní údaje.

POZNÁMKA

- Nedotýkejte se tkáňových řezů v jamkách během zkoušky.
- Použijte stříčku, nebo pipetu na promytí. Zabraňte zkřížené kontaminaci.

LITERATURA

- Melnicoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. In: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
- Hollingsworth PN et al. Antinukleární protilátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotilátky. Elsevier, 1996.
- Leung PSC et al. Mitochondrial Autoprotilátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotilátky. Elsevier, 1996.
- MacKay IR, and Gershwin ME. The autoprotilátky of primary biliary cirrhosis: clinico pathological correlations. In: Van Venrooij WJ and Maini RN eds. Manual of Biological Markers of Diseases. Kluwer Academic Publishers, 1996.
- Whittingham S and Mackay IR. Smooth muscle autoprotilátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotilátky. Elsevier, 1996.
- Jacob G and Schoenfeld Y. Actin autoprotilátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotilátky. Elsevier, 1996.
- Gleeson PA et al. Parietal Cell Autoprotilátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotilátky. Elsevier, 1996



Kód 44558	48 testů	Kód 44648	96 testů	AUTOPROTILÁTKY - RL/RK/RS (AA - RL/RK/RS) Nepřímá imunofluorescence Kryší játra/ledviny/žaludek
Kód 44570	12x4 testů	Kód 44639	12x8 testů	
Skladovat při 2 - 8°C				
Reagenty pro kvalitativní stanovení autoimunitních protilátek. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.				

8. Homberg JC, et al. Chronic active hepatitis associated with antiliver/kidney microsome antibody type 1: a second type of "autoimmune" hepatitis. *Hepatology* 1987,7(6):133-9.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu : 18.12.2017.

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí.

Originální návod najdete v soupravě a na internetové adrese:

www.biosystems.es

Český návod je k dispozici na: www.jktrading.cz

Výhradní distributor:

ČR : JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5, 150 21 Praha5, tel.: +420 257 220 760

SK : JK-Trading spol.s.r.o., Mečíkova 30, 841 07 Bratislava, tel.: +421 264 774 591

V případě mimořádných událostí:

ČR : Toxikologické informační středisko (TIS), klinika pracovního lékařství VFN a . LF UK,

tel.: +420 224 91 92 93 a +420 224 91 54 02

SK : Toxikologické informačné centrum Bratislava, 833 05, Limbová 5, tel.: +421 254 774 166