

Kód 44558	48 testů	Kód 44648	96 testů
Kód 44570	12 x 4 testů	Kód 44639	12 x 8 testů
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C			
Reagencie pro kvalitativní stanovení autoimunitních protilátek. Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.			

AUTOPROTILÁTKY – RL/RK/RS (AA – RL/RK/RS)

Nepřímá imunofluorescence
Krysí játra/ledviny/žaludek

PRINCIP METODY

Anti-nukleární (ANA), anti-mitochondriální (AMA), anti-hladká svalovina (ASMA), anti-parietální buňky (APCA), jaterní – ledvinové mikrozomy (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.

SKLADOVÁNÍ

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

Známky zhoršení kvality:

- Kapalně komponenty: Přítomnost částic, zákal
- Sklíčka: natržení sáčku, makroskopické defekty na řezech tkání, jako je poškrábání nebo sloupnutí.

OBSAH

	KÓD 44558	KÓD 44648
A. Sklíčka	12 x 4 testy	12x8 testů
B. PBS (10x)	1 x 100 mL	1 x 100 mL
C+ ANA-Ho Pozitivní kontrola	1 x 0,3 mL	1 x 0,3 mL
C+ AMA Pozitivní kontrola	1 x 0,3 mL	1 x 0,3 mL
C+ ASMA Pozitivní kontrola	1 x 0,3 mL	1 x 0,3 mL
C- Negativní kontrola	1 x 0,3 mL	1 x 0,3 mL
D. FITC/Evans (R)	1 x 3,5 mL	2 x 3,5 mL
E. Montovací medium	1 x 3 mL	1 x 3 mL
F. Absorpční papír	1 x 12	1 x 12

	KÓD 44570	KÓD 44639
A. Sklíčka	12 x 4 testy	12x8 testů

SLOŽENÍ

- A. Sklíčka:** Řezy krysích jater, ledvin a žaludku.
- B. PBS (10x):** Fosforečnan sodný, fosforečnan draselný, chlorid sodný, azid sodný 0,95 g/L. pH 7,2.
- C+. ANA-Ho Pozitivní kontrola:** Lidské sérum obsahující anti-nukleární protilátky (ANA) homogenního zobrazení, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. AMA Pozitivní kontrola:** Lidské sérum obsahující anti mitochondriální 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 imunoglobuliny konjugované s fluorescein izothiokyanátem (FITC) a navázané na krysí sérum, Evansova modř 0,01 g/L, azid sodný 0,95 g/L.
- E. Montovací médium:** Mowiol, Glycerol, Tris, azid sodný 0,95 g/L
- F. Absorpční 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.

POMOCNÉ REAGENCIE

- B. PBS (10x).** Kód 44592.
- D. FITC/Evans(R)** – (kód 44697) krysí konjugát s Evansovou modří (IgG). Nebo směsný (IgA, IgM, IgG – kód 44590).
- E. Montovací medium** (kód 44694).
- 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. (kód 44504).
- C+. APCA Pozitivní kontrola:** (kód 44532). Lidské sérum obsahující Anti – parietální protilátky, Azid sodný 0,95 g/L.
- C+. LKM Pozitivní kontrola:** (kód 44766). 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, homogenní zobrazení, Azid sodný 0,95 g/L. (kód 44502).
- C+. AMA Pozitivní kontrola:** Lidské sérum obsahující Anti-mitochondriální protilátky, Azid sodný 0,95 g/L. (kód 44512).
- C+. ASMA Pozitivní kontrola** (kód 44522): Lidské sérum obsahující protilátky proti hladké svalovině, Azid sodný 0,95 g/L. (kód 44522).
- C-. Negativní kontrola.** (kód 44696).

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

PBS: Naředte reagent B destilovanou vodou v poměru 1/10. Stabilní 1 měsíc při 2-8 °C, pokud byly dodrženy při skladování doporučené teploty, reagentie byla dobře uzavřena a nedošlo ke kontaminaci během používání. Všechny ostatní reagentie jsou dodávány připravené k přímému použití.

DOPLŇUJÍCÍ VYBAVENÍ

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

VZORKY

revize českého překladu 04/2025/VS

Kód 44558	48 testů	Kód 44648	96 testů
Kód 44570	12 x 4 testů	Kód 44639	12 x 8 testů
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C			
Reagencie pro kvalitativní stanovení autoimunitních protilátek. Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.			

AUTOPROTILÁTKY – RL/RK/RS (AA – RL/RK/RS)

Nepřímá imunofluorescence
Krysí játra/ledviny/žaludek

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 reagentie). K titraci pozitivních vzorků ředte dvojkovou řadou v PBS, přičemž začnete ředěním 1/20.

PRACOVNÍ POSTUP

- Vytemperujte reagentie a vzorky na pokojovou teplotu.
- Kápněte 1 kapku (50 µL) naředěného vzorku, nebo kontroly do každé jamky s tkáňovým řezem. Ujistěte se, že řez je kompletně pokrytý. (Poznámka 1).
- Inkubujte sklíčka 30 minut při pokojové teplotě (15-30 °C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
- Vysušte sklíčko opatrným nakloněním a poklepáváním o filtrační papír. Zabraňte zkřížené kontaminaci mezi vzorky.
- Opláchněte krátce v lehkém proudu PBS (viz. příprava reagentu) (Pozn. 2).
- Sklíčka dostatečně promyjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.
- Opatrně sklíčko osušte s použitím speciálního absorpčního papíru. Jamky nevysušujte, musí zůstat vlhké po celou dobu procedury.
- Do každé jamky přidejte 1 kapku reagentie D. Sklíčka 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 reagentie E a opatrně přikryjte krycím sklíčkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČÍTÁNÍ

Sklíčka vyhodnocujte fluorescenčním mikroskopem (zvětšení 250-400 x). Pro lepší výsledky sklíčka vyhodnocujte 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 cytoplazmě tubulárních buněk ledvin.

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

APCA: Retikulární nitrobněčné zbarvení parietálních buněk krysí 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. Nemí-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 popsany 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 ovčímu anti-human imunoglobulinu. Specifita ANA-Ho Pozitivní kontroly byla ověřena proti AF/CDC1 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 anti mitochondriálních protilátek je spojena s primární biliární cirhózou u více než 95 % pacientů^{2,3}.

ASMA: Protilátky proti hladké svalovině nacházíme v sérech 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 cirhóza	24	-	22	5
Cholangitida	10	-	8	4
Autoimunitní hepatitida	12	-	11	8
<i>Onemocnění pojivových tkání</i>	93	93	-	-
Systémový lupus erythematosus	31	31	-	-
Sjögrensovův syndrom	11	11	-	-
Sklerodermie	7	7	-	-
CREST syndrom	3	3	-	-
Revmatoidní artritida	11	11	-	-
Dermatopolymyositida	2	2	-	-
Ostatní	28	28	-	-
<i>Ostatní Autoimunitní onemocnění</i>	25	0	0	0
Megaloblastická anémie	3	0	0	0
Celiakie	7	0	0	0
Thyroiditida	9	0	0	0
Goodpastureův syndrom	2	0	0	0
Jiné (vasculitis, AFL)	4	0	0	0
Zdraví dárce	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.

POZNÁMKY

- BioSystems doporučuje použití reagentie D „IgG FITC/Evans“.
- Jako alternativu lze použít reagentie D „FITC/Evans (R)“.
- Nedotýkejte se tkáňových řezů v jamkách během zkoušky.
- Použijte stříčku, nebo pipetu na promytí. Zabraňte zkřížené kontaminaci.

Kód 44558	48 testů	Kód 44648	96 testů
Kód 44570	12 x 4 testů	Kód 44639	12 x 8 testů
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C			
Reagencie pro kvalitativní stanovení autoimunitních protilátek. Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.			

AUTOPROTILÁTKY – RL/RK/RS (AA – RL/RK/RS)

Nepřímá imunofluorescence
Krysí játra/ledviny/žaludek

LITERATURA

1. Melnicoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. In: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Hollingsworth PN et al. Antinukleární protilátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotilátky. Elsevier, 1996.
3. Leung PSC et al. Mitochondrial Autoprotilátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotilátky. Elsevier, 1996.
4. 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.
5. Whittingham S and Mackay IR. Smooth muscle autoprotilátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotilátky. Elsevier, 1996.
6. Jacob G and Schoenfeld Y. Actin autoprotilátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotilátky. Elsevier, 1996.
7. Gleeson PA et al. Parietal Cell Autoprotilátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotilátky. Elsevier, 1996.
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: 11.4. 2025

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí. Originální návod, LOT certifikát a bezpečnostní listy jsou k dispozici na internetové adrese: <https://einfo.bio> a na: www.jktrading.cz

Výhradní distributor:

ČR: JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5, 150 21 Praha 5,
tel.: +420 257 220 760, paha@jktrading.cz
SK: JK-Trading spol.s.r.o., Dlhá 43, 900 31 Stupava,
tel.: + 421 264 774 591, jk-trading@jk-trading.sk

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