


PROTILÁTKY PROTI KŮŘE NADLEDVINEK(AACA)

Kód 44574 12x4 testů	Kód 44575 48 testů	 Protilátky proti kůře nadledvinek (AACA) Nepřímá imunofluorescence Opičí nadledvinky
Skladovat při 2 - 8°C		
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek proti kůře nadledvinek. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.		

PRINCIP METODY

Sérové protilátky proti kůře nadledvinek (AACA) se vážou na odpovídající antigeny přítomné v řezu opičích nadledvinek. K detekci komplexu antigen-protilátka je použito sérum s anti-human imunoglobulinem značeným fluoresceinem. Vyhodnocení se provádí fluorescenčním mikroskopem¹.

OBSAH

	Kód 44 574	Kód 44 574
A. Sklíčka	12 x 4 testů	12 x 4 testů
B. PBS (10x)	-	1 x 100 mL
C-. Negativní kontrola	-	1 x 0,3 mL
D. IgG FITC/Evans (M)	-	1 x 3,5 mL
E. Montovací médium	-	1 x 3 mL
F. Blotovací papír	-	1 x 12

SLOŽENÍ

- A. **Sklička.** Tkáňový řez opičích nadledvinek (MA) v každé jamce
- B. **PBS (10x).** Fosforečnan sodný, fosforečnan draselný, chlorid sodný, azid sodný 0,95 g/L, pH 7,2. (kód 44 692)
- C-. **Negativní kontrola.** Lidské sérum, azid sodný 0,95 g/L. (kód 44 696)
- D. **IgG FITC/Evans (M):** Kozí anti-human IgG konjugovaný s fluorescein isothiokyanátem (FITC) a adsorbovaný s opičím sérem, Evansova modř 0,01 g/L, azid sodný 0,95 g/L. (kód 44 596)
- E. **Montovací médium :** Mowiol, Glycerol, Tris, azid sodný 0,95 g/l (kód 44 694)
- F. **Blotovací papír**
Lidská séra použitá při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a sledována 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.
 Reagencie jsou stabilní do data expirace uvedené na štítku, jestliže jsou skladovány uzavřené a je zabráněno kontaminaci v průběhu jejich užívání.

Známky zhoršení kvality:

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

VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

Při manipulaci se všemi laboratorními činidly dodržujte obvyklá preventivní opatření. Pro profesionální uživatele je bezpečnostní list k dispozici na vyžádání. Likvidace veškerého odpadu by měla být provedena v souladu s místními směrnici. Jakákoli závažná událost, která by mohla nastat v souvislosti s testováním, musí být nahlášena BioSystems S.A.

POMOCNÉ REAGENCIE

Pro kód **44574** je **potřebné doobjednat** následující reagencie :

- A. Sklička
 B. PBS (10x)
 C-. Negativní kontrola
 C+ AACA pozitivní kontrola
 D. IgG FITC/Evans (M)

- E. Montovací médium
 F. Blotovací papír

Pro kód **44575** je **potřebné doobjednat** následující reagencie :

C+. AACA pozitivní kontrola: Lidské sérum obsahující protilátky proti kůře nadledvinek a azid sodný 0,95g/L.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

PBS: Naředte reagencii B destilovanou vodou v poměru 1/10. Stabilní 1 měsíc při 2-8 ° C, pokud byly dodrženy při skladování doporučené teploty, reagencie byla dobře uzavřena a nedošlo ke kontaminaci během jejího používání.

PŘÍDAVNÁ 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. Stabilní po dobu 1 týdne při 2-8°C.
 Sérum zředte 1/4 v PBS (Viz. příprava reagentů). K titraci pozitivních vzorků ředte dvojkovou řadou v PBS, přičemž začnete ředěním 1/4.


PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte reagencie a vzorky na pokojovou teplotu.
2. Kápněte 1 kapku (50 µL) naředěného vzorku, nebo kontroly do každé jamky s tkáňovým řezem (A). Ujistěte se, že řez je kompletně pokrytý. (Poznámka 1).
3. Inkubujte sklička 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
4. Nakloňte skličko a opatrným poklepáváním o filtrační papír odstraňte přebytečné kapky vzorku. Zabraňte zkřížené kontaminaci.
5. Sklička opláchněte krátce v lehkém proudu PBS (viz. příprava reagentů) (Poznámka 2).
6. Sklička pořádně promyjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.
7. Opatrně skličko osušte s použitím speciálního odsávacího papíru. Tkáňový řez nevysušujte, musí zůstat vlhký po celou dobu procedury.
8. Do každé jamky přidejte 1 kapku reagencie D. Sklička inkubujte po dobu 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) ve zvlhčovací komůrce.
9. Promyjte podle bodu 6 a osušte podle bodu 7.
10. Přidejte do každé jamky několik kapek reagencie E a opatrně přikryjte krycím skličkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČÍTÁNÍ

Sklička vyhodnocujte s použitím fluorescenčního mikroskopu (zvětšení 250-400x). Pro lepší výsledky sklička vyhodnocujte okamžitě. Pro odečet zvolte vnitřní část tkáňového řezu, intenzita fluorescence v okrajích není charakteristická. Séra vykazující intracelulární zbarvení s granulárním (zrnitým) vzhledem se doporučuje zředit, protože by mohly být považovány za pozitivní.

PROTILÁTKY PROTI KŮŘE NADLEDVINEK(AACA)

Kód 44574 12x4 testů	Kód 44575 48 testů		Protilátky proti kůře nadledvinek (AACA) Nepřímá imunofluorescence Opičí nadledvinky
Skladovat při 2 - 8°C			
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek proti kůře nadledvinek. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.			

Pozitivní séra mohou být titrována.

Titration séra je definován jako nejvyšší zředění dávající pozitivní výsledek. Jestliže nebyl nalezen specifický obraz, výsledek testu se hodnotí jako negativní pro tyto protilátky.

KONTROLA KVALITY

Pozitivní kontrola (C+) a Negativní kontrola (C-) kód 44696 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, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

CHARAKTERISTIKA TESTU

- IgG FITC/Evans(M) konjugát je kalibrován proti WHO Mezinárodnímu standardu pro FITC značený ovčí anti-human IgG immunoglobulin pro důkaz protilátek v lidském séru.
- Výsledky získané se soupravou BioSystems AACA ve srovnávací studii s protilátkami anti-21 hydrolázy metodou radioimunoassay nevykazovaly signifikantní rozdíly. Detaily této srovnávací studie jsou k dispozici na vyžádání.
- Specifita AACA pozitivní kontroly byla verifikována proti internímu referenčnímu séru.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Nepřímá imunofluorescence je konvenční metoda pro stanovení protilátek proti kůře nadledvinek (AACA).

Přítomnost cytoplasmatických protilátek proti nadledvinkám (AACA) výrazně indikuje addisonovo onemocnění, neznámých potíží, které vznikly na základě nedostatku adrenokortikoidních hormonů. Většina nemocných má prvotně amenoreu a addisonovo onemocnění má detekovatelné cytoplasmatické protilátky proti nadledvinkám. Tyto protilátky jsou důležitým markerem pro predikci rozvíjení addisonova onemocnění^{2,3}.

BioSystems AACA souprava byla použita při testování 170 sér, 92 pacientů s Addisonovým onemocněním a 78 testovaných bylo zdravých.

Výsledky získané tímto stanovením vykazovaly 94,5 % senzitivitu a 100% specifitu.

Pacienti	n	Biosystems AACA	
		Pozitivní	Negativní
Pacienti s Addisonovým onemocněním	92	87	5
Zdraví testovaní	78	0	78

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

POZNÁMKA

1. Nedotýkejte se tkáňových řezů v jamkách během zkoušky.
2. Použijte stříčku, nebo pipetu na promytí. Zabraňte zkřížené kontaminaci mezi vzorky.

LITERATURA

1. Melnicoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. In: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Hoek A, Wulfrffraat NM and Drexhage HA. Steroid cell autoantibodies. In: James B. Peter and Yehuda Shoefeld ads.Autoantibodies. Elsevier, 1996.
3. Ten S, New M, Maclaren N. Clinical R. Addison's Disease. Clinical Review. JJ. Clin Endocrinol Metab 2001, 88: 2909-2922.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 28.12.2021.

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.iktrading.cz

Výhradní distributor:

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

SK : JK-Trading spol.s.r.o., Dlhá 43, 900 31, Stupava, 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