



AUTOPROTILÁTKY-MsL / MsK / MsS (AA-MsL / MsK / MsS)



Kód 44826	12 x 4 testů	Kód 44827	12 x 8 testů	AUTOPROTILÁTKY-MsL / MsK / MsS (AA-MsL / MsK / MsS) Nepřímá imunofluorescence Myší játra/ledviny/žaludek
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C				
Reagencie pro kvalitativní stanovení autoimunitních protilátek. Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.				

PRINCIP METODY

Sérové autoprotiátky namířené proti jádru (ANA), mitochondriím (AMA), hladkému svalstvu (ASMA), parietální buňce žaludku (APCA), mikrozomům jater a ledvin (LKM), retikulínu a dalším, se vážou na odpovídající antigeny přítomné v přípravku obsahujících myší játra, ledviny a žaludek. Výsledné komplexy antigen-protilátka jsou detekovány pomocí fluoresceinem značeného anti-lidského imunoglobulinu a vizualizovány pomocí fluorescenčního mikroskopu¹.

Obsah

	KÓD 44826	KÓD 44827
A. Sklíčka	12 x 4 testy	12 x 8 testů

A. Sklíčka: Řezy myších jater, ledvin a žaludku (ML/MK/MS) v každé jamce.

SKLADOVÁNÍ

Skládají se při 2-8 °C. Reagencie jsou stabilní do data expirace uvedeného na štítku, jestliže jsou skladovány uzavřené a je zabráněno jejich kontaminaci.

Známky zhoršení kvality:

- Kapalné reagencie: přítomnost částic, zákal
- Sklíčka: natržení sáčku, makroskopické defekty na buněčných kulturách, jako je poškrábání nebo sloupnutí.

POMOCNÉ REAGENCIE

Pro kódy 44826 a 44827 je třeba objednat následující reagencie:

- B. PBS (10x)** (kód 44592): Fosforečnan sodný, fosforečnan draselný, chlorid sodný, azid sodný 0,95 g/L, pH 7,2. (kód 44592).
- D. FITC/Evans:** Anti-lidský IgG konjugovaný s fluorescein isothiokyanátem (FITC), Evansova modř, azid sodný 0,95 g/L. (kód 44590).
- D¹ FITC/Evans (R):** Anti-lidský imunoglobulin konjugovaný s fluorescein isothiokyanátem (FITC) a adsorbovaný s potkaním sérem. Evansova modř, azid sodný 0,95 g/L. (kód 44 697).
- E. Montovací médium** (kód 44694): Mowiol, glycerol, Tris, azid sodný 0,95 g/L. (kód 44694).
- C+. ANA-Ho Pozitivní kontrola** (kód 44502): Lidské sérum obsahující anti-nukleární protilátky (ANA) homogenního zobrazení, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. AMA Pozitivní kontrola** (kód 44512): Lidské sérum obsahující protilátky proti mitochondriím (AMA), 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+. APCA Pozitivní kontrola:** (kód 44532). Lidské sérum obsahující protilátky proti parietálním buňkám, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. LKM Pozitivní kontrola:** (kód 44766). Lidské sérum obsahující protilátky proti jaterním-ledvinovým

mitochondriím, azid sodný 0,95 g/L.

- C-. Negativní kontrola** (kód 44696): Lidské sérum, azid sodný 0,95 g/L.

Lidská séra použitá pro výrobu pozitivní a negativní kontroly byla testována a sledována negativně na přítomnost protilátek anti-HIV a anti-HCV, a stejně tak na HBs antigen. Nicméně zacházejte s kontrolou jako s potenciálně infekčním materiálem.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

PBS: Naředěte reagenci 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 používání. Všechny ostatní reagencie jsou dodávány připravené k přímému použití.

DOPLŇUJÍCÍ VYBAVENÍ

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

VZORKY

Sérum nebo plazma odebraná standardním postupem.

Stabilita po dobu 1 týdne při 2-8 °C.

Sérum zředěte 1/20 v PBS (Viz. Příprava reagencie).

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

PRACOVNÍ POSTUP

- Vytemperujte reagencie a vzorky na pokojovou teplotu.
- Kápněte 1 kapku (50 µL) naředěného vzorku, nebo kontroly do každé jamky s tkáňovým řezem. Ujistěte se, že je řez kompletně pokrytý. (Poznámka 2).
- 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. 3).
- Skolíčka důkladně 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 reagencie 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 reagencie E a opatrně přikryjte krycím sklíčkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČTÁNÍ

Skolíčka vyhodnocujte fluorescenčním mikroskopem (zvětšení 250-400 x). Pro lepší výsledky sklíčka vyhodnocujte okamžitě. Pro odečet zvolte vnitřní část tkáňového řezu. Intenzita fluorescence



AUTOPROTILÁTKY-MsL / MsK / MsS (AA-MsL / MsK / MsS)



Kód 44826	12 x 4 testů	Kód 44827	12 x 8 testů	AUTOPROTILÁTKY-MsL / MsK / MsS (AA-MsL / MsK / MsS) Nepřímá imunofluorescence Myši játra/ledviny/žaludek
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C				
Reagencie pro kvalitativní stanovení autoimunitních protilátek. Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.				

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.

AMA: Granulární fluorescence mitochondrií v cytoplasmě tubulárních buněk ledvin.

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

APCA: Retikulární nitrobuněčné zbarvení parietálních buněk myši žaludeční sliznice.

LKM: Typ I. Silné zbarvení cytoplazmy hepatocytů v játrech a cytoplazmy v proximálních tubulech 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-) 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 mezinárodnímu standardu WHO pro ovčí anti-human imunoglobuliny konjugované s FITC. Specifita ANA-Ho Pozitivní kontroly byla ověřena proti AF/CDC1 referenčnímu séru z Centra pro kontroly onemocnění/Arthritis Foundation.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

ANA: Citlivost stanovení anti nukleárních protilátek je vyšší než 95 % pro systémový lupus erythematoses, ačkoli specifita je poměrně nízká².

AMA: Přítomnost mitochondriálních protilátek je spojená s primární biliární cirhózou u více než 95 % pacientů^{3,4}.

ASMA: Protilátky proti hladkému svalstvu se nacházejí v séru 52-85 % pacientů s autoimunitní chronickou aktivní hepatitidou a u 22 % pacientů s primární biliární cirhózou^{5,6}.

APCA: Protilátky proti žaludečním parietálním buňkám se nacházejí u 90 % pacientů s perniciózní anémií, obvykle spojenou s jinými tkáňově specifickými autoimunitními onemocněními⁷.

LKM: Protilátky proti LKM typu I jsou považovány za markery autoimunitní hepatitidy typu II⁸.

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

POZNÁMKY

1. BioSystems doporučuje použití reagencie D „IgG FITC/Evans“.

Jako alternativu lze použít reagencii D „FITC/Evans (R)“.

2. Nedotýkejte se tkáňových řezů v jamkách během zkoušky.

3. 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. Antinuclear antibodies. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.
- Leung PSC et al. Mitochondrial Autoantibodies. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.
- MacKay IR, and Gershwin ME. The autoantibodies 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 autoantibodies. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.
- Jacob G and Schoenfeld Y. Actin autoantibodies. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.
- Gleeson PA et al. Parietal Cell Autoantibodies. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.
- Homborg JC, et al. Chronic active hepatitis associated with anti liver/kidney microsome antibody type 1: a second type of "autoimmune" hepatitis. Hepatology 1987,7(6):1333-9.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 14.4. 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