

Kód 44618	48 testů	Kód 44517	12 x 4 testy
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C			
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek proti keratinu. Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.			



PROTILÁTKY PROTI KERATINU (AKA)

Nepřímá imunofluorescence
Krysí jícen

PRINCIP METODY

Sérové anti-keratinové protilátky (AKA) se vážou na filagrin přítomný v krysích sekcích jícnu (střední třetina). Komplexy antigen-protilátka jsou detekovány pomocí fluoresceinem značeného anti-lidského imunoglobulinu G a vizualizovány pomocí fluorescenčního mikroskopu¹.

OBSAH

KÓD 44618	
A. Sklíčka	12 x 4 testů
B. PBS (10x)	1 x 100 mL
C-. Negativní kontrola	1 x 0,3 mL
D. IgG FITC/Evans (R,CI)	1 x 3 mL
E. Montovací médium	1 x 3 mL
F. Blotovací papír	1 x 12
KÓD 44517	
A. Sklíčka	12 x 4 testů

SLOŽENÍ

- A. Sklíčka: Řezy krysího jícnu (střední třetina).
 B. PBS (10x): Fosforečnan sodný, fosforečnan draselný, chlorid sodný, azid sodný 0,95 g/L. pH 7,2.
 C-. Negativní kontrola: Lidské sérum, azid sodný 0,95 g/L.
 D. IgG FITC/Evans: Kozí anti-human IgG konjugovaný s fluoresceinem isothiokyanátem (FITC), 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.

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
- Sklíčka: natržení sáčku, makroskopické defekty na tkáňových řezech, jako je poškrábání nebo sloupnutí.

POMOCNÉ REAGENCIE

- B. PBS (10x) (kód 44592).
 D. IgG FITC/Evans (R,CI) (kód 44697).
 E. Montovací médium (kód 44694)
 C+. Pozitivní kontrola: Lidské sérum obsahující anti-keratinové protilátky (AKA) (kód 44619).
 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 sklička 24 x 60 mm
- Fluorescenční mikroskop s excitačním filtrem 495 nm a 525 emisním filtrem pro FITC vizualizaci.

VZORKY

Sérum, nebo plazma odebraná standardním postupem. Vzorek je stabilní po dobu 1 týdne při 2-8°C. Sérum zředte 1/10 v PBS (viz. příprava reagentu).

K titraci pozitivních vzorků ředte dvojkovou řadou v PBS, výchozí ředění je 1/10.

PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte reagentie 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. Opláchněte krátce v lehkém proudě PBS (viz. Příprava reagentu) (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 absorpčního papíru. Tkáňový řez nevysušujte, musí zůstat vlhký po celou dobu procedury.
8. Do každé jamky přidejte 1 kapku reagentie 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 reagentie E a opatrně přikryjte krycím sklíčkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČÍTÁNÍ

Sklička vyhodnocujte s použitím fluorescenčního mikroskopu (zvětšení 250-400 x). Pro lepší výsledky sklička vyhodnocujte okamžitě. Pro odečet zvolte vnitřní část tkáňového řezu, intenzita fluorescence v okrajích není charakteristická.

Séra vykazující lineární a vrstvenou fluorescenci omezenou vrchní rohovou vrstvou krysího jícnu při doporučeném ředění by měla být hodnocena jako pozitivní. Pozitivní séra lze titrovat.

Jestliže nebyl nalezen specifický obraz, výsledek testu se hodnotí jako 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 svoji vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

Kód 44618	48 testů	Kód 44517	12 x 4 testy	 PROTILÁTKY PROTI KERATINU (AKA) Nepřímá imunofluorescence Krysí jícen
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C				
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek proti keratinu. Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.				

CHARAKTERISTIKA TESTU

Konjugát FITC/Evans je hodnocen podle mezinárodního standardu WHO pro ovčí anti-lidský IgG značený FITC. Filagrin přítomný ve střední třetině jícnu potkana a rozpoznávaný protilátkami anti-keratinovými protilátkami (AKA) je extrémně citlivý na změny teploty a může ztratit svou antigenicitu, pokud sklíčka nejsou správně chlazená (2-8 °C) během přepravy nebo skladování.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Přítomnost vysokých hladin anti-keratinových protilátek (AKA) silně svědčí pro revmatoidní artritidu. Diagnostická senzitivita pro toto onemocnění se pohybuje od 3é do 87 % a diagnostická specifita od 90 do 99 % v závislosti na designu studie a použité metodě. AKA jsou také nalezeny u jedné třetiny pacientů s revmatoidní artritidou s negativním revmatoidním faktorem^{2,3}.

Souprava BioSystems anti-keratinových protilátek byla použita při testování 177 sér pacientů s revmatoidní artritidou a u pacientů s jinými pojivovými onemocněními. Výsledky vykazovaly 95 % specifitu a 30,4 % citlivost pro revmatoidní artritidu.

Onemocnění	n	Pozitivní	Negativní
Revmatoidní artritida (RA)	123	38	49
RA v léčbě	5	1	4
Podezření na RA	12	0	12
Ostatní tkáňová onemocnění	37	2	35

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

POZNÁMKY

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

LITERATURA

- Melnicoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. En: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
- Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, Clark CJ, Hamblin TJ. Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. Br Med J 1979; 2 (6182): 97-99.
- Conrad K, Schössler W, Hiepe F. Autoantibodies in Systemic Autoimmune Diseases. A diagnostic reference. In: Autoantigens, Autoantibodies, Autoimmunity, vol. 2. Conrad K and Sack U eds. 2002.

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