



| | | | | |
|--|------------|-----------|------------|--|
| 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 | | | | |
| Reagencie 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. Sklíčka | 12 x 4 testy | 12x8 testů |
| B. PBS (10x) | 1 x 100 mL | 1 x 100 mL |
| C+ ANA-Ho Pozit. 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 médium | 1 x 3 mL | 1 x 3 mL |
| F. Odsávací 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) 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 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. Odsávací papír** - blotovací papír

Lidská séra použita při přípravě 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 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 jejich kontaminaci v průběhu používání.

Známky zhoršení kvality:

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

POMOCNÉ REAGENCIE

- B. PBS (10x)**
- D. FITC/Evans(R)** - krysí konjugát s Evansovou modří.
- E. Montovací médium**
- 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 reagenční B destilovanou vodou v poměru 1/10. Stabilní 1 měsíc při 2-8 ° C, pokud byly dodrženy při skladování doporučené teploty, reagenční byla dobře uzavřena a nedošlo ke kontaminaci během používání. Všechny ostatní reagenční jsou dodávány připravené k přímému použití.

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- 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

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

PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte reagenční 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 skříčka 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
4. Vysušte skříčko opatrným nakloněním a poklepáním o filtrační papír. Zabraňte zkřížené kontaminaci mezi vzorky.
5. Opláchněte krátce v lehkém proudu PBS (viz. příprava reagentu) (Pozn. 2).

| | | | |
|--|------------|-----------|------------|
| Kód 44558 | 48 testů | Kód 44648 | 96 testů |
| Kód 44570 | 12x4 testů | Kód 44639 | 12x8 testů |
| Skladovat při 2 - 8°C | | | |
| Reagencie pro kvalitativní stanovení autoimunitních protilátek. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích. | | | |

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

Nepřímá imunofluorescence Kryší játra/ledviny/žaludek

- Sklíčka dostatečně promyjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.
- Opatrně sklíčko osušte s použitím speciálního odsávacího papíru. Jamky nevysušujte, musí zůstat vlhké po celou dobu procedury.
- Do každé jamky přidejte 1 kapku reagentu 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 reagentu E a opatrně přikryjte krycím sklíčkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČÍTÁNÍ

Sklíčka vyhodnocujte fluorescenčním mikroskopem (zvětšení 250-400x). 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 kryšího žaludku.

APCA: Retikulární nitrobuňečné zbarvení parietálních buněk kryší 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 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 antimitochondriálních protilátek je spojená 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 cirhosa | 24 | - | 22 | 5 |
| Colangitida | 10 | - | 8 | 4 |
| Autoimunitní hepatitida | 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 výsledku 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 | | | | |
| Reagencie 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: 27.12.2021.

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme přezkontrolovat 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 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