

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



PRINCIP METODY

Protílátky proti keratinu (AKA) přítomné v séru se vážou na odpovídající antigeny přítomné v řezu střední třetiny krysího jícnu. K vizualizaci komplexu antigen-protílátka je použito sérum s anti-lidským imunoglobulinem G značeným fluoresceinem. Vyhodnocování se provádí fluorescenčním mikroskopem¹.

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 fluorescein 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. Odsávací 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:

- Kapalně 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 44689)
E. Montovací médium (kód 44694)
C+. Pozitivní kontrola: Lidské sérum obsahující anti-keratinové protílátky (AKA) (kód 44619)
C-. Negativní kontrola (kód 44696)

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 sklíčka 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 reagenční 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 sklíčka 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
4. Nakloňte sklíčko a opatrným poklepáváním o filtrační papír odstraňte přebytečné kapky vzorku. Zabraňte zkřížené kontaminaci.
5. Opláchněte krátce v lehkém proudu PBS (viz. příprava reagentu) (Poznámka 2).
6. Sklíčka pořádně promyjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.
7. Opatrně sklíčko osušte s použitím speciálního odsávacího papíru. Tkáňový řez nevysušujte, musí zůstat vlhký po celou dobu procedury.
8. Do každé jamky přidejte 1 kapku reagenční D. Sklíčka 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 reagenční E a opatrně přikrejte krycím sklíčkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČÍTÁNÍ

Sklíčka vyhodnocujte s použitím fluorescenčního mikroskopu (zvětšení 250-400x). Pro lepší výsledky sklíčka 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 protílátky.

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 popsaný specifický obraz.

Negativní kontrola (C-) by neměla dávat žádný specifický obraz.

Každá laboratoř by si měla stanovit svůj vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

CHARAKTERISTIKA TESTU

Konjugát FITC/Evans je kalibrován proti WHO Mezinárodnímu standardu pro FITC značenému ovčím anti-human imunoglobulinem G.

Filagryny přítomné ve střední třetině krysího jícnu a rozpoznávané anti-keratin protílátkami (AKA), jsou nesmírně citlivé ke změnám teploty a mohou ztratit citlivost k antigenům, pokud nebudou sklíčka správně chlazená (2-8°C) během transportu a skladování.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Přítomnost anti-keratinových protilátek (AKA) ve vysokých

PROTILÁTKY PROTI KERATINU (AKA)



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



koncentracích silně indikují revmatoidní artritidu. Diagnostická citlivost tohoto onemocnění je variabilní od 30 do 87%, a diagnostická specifita je od 90 do 99%, vše záleží na zkušenosti odečítání a použité metodě. AKA protilátky lze také nalézt u 1/3 pacientů s revmatoidní artritidou i když mají revmatoidní faktor negativní^{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

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. En: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, Clark CJ, Hamblin TJ. Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. Br Med J 1979; 2 (6182): 97-99.
3. 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: 27.12.2021.

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