



ANTI – nDNA PROTILÁTKY (nDNA)



Kód 44825 24 testov	Kód 44818 60 testov	Kód 44817 120 testov	ANTI – nDNA PROTILÁTKY (nDNA) Nepriama imunofluorescencia Crithidia Luciliae
Kód 44820 10x 6 testov		Kód 44819 10 x 12 testov	
Skladovanie pri 2 - 8°C			
Reagencie na kvalitatívne stanovenie anti-nDNA protilátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku			

PRINCÍP METÓDY

Anti- nDNA protilátky zo séra sa viažu na odpovedajúci antigén prítomný v Crithidia Luciliae. Výsledný komplex antigén-proti látka je detekovaný pomocou anti-luského imunoglobulínu značeného fluoresceinom. Vyhodnotenie sa uskutočňuje pomocou fluorescenčného mikroskopu. ¹

OBSAH

	kód 44825	Kód 44818	Kód 44817
A. sklička	4 x 6 jamiek	10 x 6 jamiek	10 x 12 jamiek
B. PBS (10x)	1x100ml	1x100ml	1x100ml
C+ nDNA pozitívna kontrola	1x0,3ml	1x0,3ml	2x0,3ml
C- Negatívna kontrola	1x0,3ml	1x0,3ml	2x0,3ml
D. IgG FITC/Evans	1x3ml	1x3ml	2x3ml
E. Montovacie médium	1x3ml	1x3ml	1x3ml
F. Savý papier	1x4	1x10	1x10

	Kód 44820	Kód 44819
A. sklička	10x6 jamiek	10x12 jamiek

ZLOŽENIE

- A. Sklička** : Crithidia luciliae v každej jamke
- B. PBS(10x)** : Fosforečnan sodný, fosforečnan draselný chlorid sodný, azid sodný 0,95g/l. pH 7,2
- C+ nDNA Pozitívna kontrola** : ľudské sérum obsahujúce protilátky proti natívnej DNA (nDNA), azid sodný 0,95 g/l
- C-. Negatívna kontrola** : ľudské sérum, azid sodný 0,95g/l
- D. IgG FITC/Evans** : kozí anti-ľudský IgG konjugovaný s fluoresceín izotiokyanátom (FITC), Evansova modrá 0,01g/l, azid sodný 0,95g/l
- E. Montovacie médium**: Mowiol, Glycerol, Tris, azid sodný 0,95 g/L
- F. Savý papier**

Ľudské séra použité pri príprave pozitívnej a negatívnej kontroly boli testované s negatívnym výsledkom na anti-HIV a anti-HCV a rovnako na HBs antigen. I napriek tomu zaobchádzajte s kontrolami ako s potenciálne infekčným materiálom.

SKLADOVANIE

Skladujte pri 2 – 8°C.
Reagencie sú stabilné do dátumu uvedeného na štítku v prípade, že sú skladované uzatvorené a je zabránené kontaminácii v priebehu ich používania.

Príznačky zhoršenia kvality :

- Kvapalné reagencie : Prítomnosť zrazeniny, zákalu
- Mikrotitračné doštičky : natrhnutie sáčku, makroskopické defekty na buncňoch kultúrach, ako je poškrabanie dna jamiek, odlúpnutie.

POMOCNÉ REAGENCIE

- B. PBS (10x)**
- D. IgG FITC/Evans**, konjugát s Evansovou modrou pre kvalitnejšie rozlíšenie
- E. Montovacie médium**
- C+ nDNA Pozitívna kontrola**
- C-. Negatívna kontrola**

PRÍPRAVA REAGENCIÍ

PBS: Reagenciu B naředíte destilovanou vodou v pomere 1/10. Stabilná 1 mesiac pri 2-8 ° C, ak boli pri skladovaní dodržané odporúčané teploty, reagencia bola dobre uzatvorená a nedošlo ku kontaminácii v priebehu jej používania. Ostatné činidlá sú pripravené k priamemu použitiu.

PRÍDAVNÉ ZARIADENIA

- zvlhčovacia komôrka
- premyvacie zariadenie
- krycie sklička 24x60 mm
- fluorescenčný mikroskop s excitačným filtrom 495nm a 525 nm emisným filtrom pre FITC vizualizáciu

VZORKY

Sérum alebo plazma odobraná štandardným spôsobom. Stabilita – 1 týždeň pri 2 – 8°C.
Vzorku pred testovaním zriedte v pomere 1/10 PBS – vid' príprava reagentií. Na titráciu pozitívnych vzoriek riedte dvojkovým radom v PBS – začnite riedením 1/10.

POSTUP

1. Vytemperujte všetky činidlá na izbovú teplotu.
2. Aplikujte 1 kvapku (25µl) naředenej vzorky alebo kontroly do každej jamky (A). Uistite sa, že je kompletne pokrytá. (Poznámka1)
3. Sklička dajte do zvlhčovacej komôrky a inkubujte 30 minút pri izbovej teplote (15-30°C).
4. Skličko nakloňte a opatrným poklepávaním o filtračný papier odstráňte prebytočné kvapky vzorky. Zabráňte skříženej kontaminácii.
5. Zľahka opláchnite reagentiou PBS (vid' PRÍPRAVA REAGENCIÍ). (Poznámka2)

ANTI – nDNA PROTILÁTKY (nDNA)

Kód 44825 24 testov	Kód 44818 60 testov	Kód 44817 120 testov
Kód 44820 10x 6 testov		Kód 44819 10 x 12 testov
Skladovanie pri 2 - 8°C		
Reagencie na kvalitatívne stanovenie anti-nDNA protilátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku		

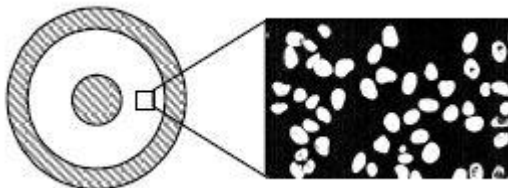
ANTI – nDNA PROTILÁTKY (nDNA)

Nepriama imunofluorescencia
Crithidia Luciliae

- Sklička premývajte 5 minút v nádobe obsahujúcej PBS. Potom PBS vymeňte a premývanie zopakujte.
- Skličko opatrne osušte špeciálnym odsávacím papierom.
- Jamky musia zostať vlhké v priebehu celej procedúry, preto ich nevysušujte. Aplikujte 1 kvapku reagencie D do každej jamky. Inkubujte pri izbovej teplote 30 minút vo zvlhčovacej komôrke.
- Premývajte podľa bodu 6 a osušte podľa bodu 7.
- Do každej jamky pridajte niekoľko kvapiek reagencie E a opatrne prekryte krycím sklíčkom tak, aby nevznikli vzduchové bubliny.

ODČÍTANIE

Sklička vyhodnocuje pomocou fluorescenčného mikroskopu (zväčšenie 250-400x). Aby ste dosiahli najlepšie výsledky, vyhodnocujte sklička okamžite. Zvoľte strednú časť zorného poľa medzi strednou a krajnou zónou v časti s rovnomernou vzdialenosťou medzi bunkami. Intenzita fluorescencie na okrajoch a v strede nie je charakteristická.



jamka

vybraná časť zorného poľa

Crithidia luciliae je hemoflagelát s modifikovaným mitochondriom zvaným kinetoplast, ktorý obsahuje dvojzvitnicu DNA (nDNA), ktorá nie je viazaná na históny a zjavne jej chýba akýkoľvek iný nukleárny antigén.

Kinetoplast je kruhovitá organela menšia ako jadro a je umiestnená medzi jadrom a bazálnym telieskom.(2,3,4). Séra vykazujúce jasnú fluorescenciu kinetoplastu pri odporúčanom riedení by mali byť považované za pozitívne. Fluorescenciu môže vykazovať tiež jadro, bazálne teliesko alebo bičík, ale posudzuje sa iba fluorescencia kinetoplastov.

Pozitívne séra môžu byť titrované. Titer séra je definovaný ako najvyššie riedenie vykazujúce pozitívny výsledok.

KONTROLA KVALITY

Pozitívna (C+) a negatívna kontrola (C-) by mala byť testovaná spoločne so vzorkou pacienta, ak bola zakúpená so súpravou

kód 44825, 44817, alebo 44818, aby bolo verifikované správne prevedenie testu. Pozitívna kontrola (C+) by mala vykazovať vyššie opísaný špecifický obraz. Negatívna kontrola (C-) by nemala dávať žiadny špecifický obraz. Každé laboratórium by si malo stanoviť svoju vlastnú vnútornú kontrolu kvality a postupy pre nápravné jednanie v prípade, že kontroly nie sú v tolerančnom rozpätí.

CHARAKTERISTIKA TESTU

IgG FITC/Evans konjugát je kalibrovaný oproti WHO Medzinárodnému štandardu pre FITC značený ovčí anti-ludský imunoglobulín.

Správnosť : výsledky získané touto súpravou nevykazovali systematické rozdiely pri porovnávaní s referenčnými reagentami. Detaily o porovnávacej skúške sú k dispozícii na vyžiadanie.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Crithidia luciliae imunofluorescenčný test na stanovenie nDNA protilátok má vysokú diagnostickú špecifitu, ale i pomerne vysokú diagnostickú senzitivitu pre systémový lupus erythematosus (SLE). Najčastejšie sú detekované autoprotilátky spojené so SLE : u 95% pacientov so SLE s postihnutím obličiek, u 50-70% pacientov so SLE bez postihnutia obličiek, u 40% pacientov s neaktívnym SLE. Anti-nDNA protilátky sa u zdravých jedincov vyskytujú zriedka .⁵

Súprava BioSystems anti – nDNA protilátky bola použitá na testovanie 80 sér od pacientov so SLE, ako aj od zdravých darcov. Výsledky sú uvedené nižšie :

	N	POZ	NEG	Senzitivita	Špecifita
SLE	43	29	14	67	100
SLE bez postihnutia obličiek	25	15	10	60	100
SLE s postihnutím obličiek	18	14	4	78	100
Iné autoimunitné poruchy	20	0	20		
Zdraví darcovia	17	0	17		

Klinická diagnóza by nemala byť stanovená iba na základe výsledku jedného testu, ale mali by byť prepojené klinické a laboratórne údaje.

POZNÁMKY

- Nedotýkajte sa behom testu tkanivových rezov v jamkách.
- Na premytie použite stričku alebo pipetu. Zabráňte skříženej kontaminácii medzi vzorkami.



ANTI – nDNA PROTILÁTKY (nDNA)



Kód 44825 24 testov	Kód 44818 60 testov	Kód 44817 120 testov	ANTI – nDNA PROTILÁTKY (nDNA) Nepriama imunofluorescencia Crithidia Luciliae
Kód 44820 10x 6 testov		Kód 44819 10 x 12 testov	
Skladovanie pri 2 - 8°C			
Reagencie na kvalitatívne stanovenie anti-nDNA protilátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku			

LITERATÚRA

1. Melnicoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. En: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Aarden LA, de Groot ER and Feltkamp TEW. Immunology of DNA III. Crithidia luciliae, a simple substrate for the determination of anti-dsDNA with the immunofluorescence technique. Ann NY Acad Sci 1975; 254: 505-515.
3. Stingl G et al. An Immunofluorescence Procedure for the Demonstration of Antibodies to Native, Double-Stranded DNA and Circulating DNA-Anti-DNA Complexes. Clin Immunol and Immunopathol 1976; 6: 131-140.
4. Konstantinov KN and Russanova VR. Evidence for absence of histones in the Crithidia luciliae kinetoplast: a study with antiH2A and monoclonal anti-H3 antibodies. British Journal of Dermatology 1987; 117: 451-456.
4. Conrad K, Schöfler W, Hiepe F. Autoantibodies in Systemic Autoimmune Diseases. A Diagnostic Reference. Autoantigens, autoantibodies, autoimmunity. Vol. 2. Pabst Science Publishers, 2002.

UPOZORNENIE

Slovenský preklad k 29.12.2021.

Vzhľadom k možnej inovácii výrobku sa odporúča prekontrolovať slovenský preklad s originálnym príbalovým letákom tak, že sa porovnajú identifikačné čísla uvedené v zápatí. Originálny návod nájdete v súprave a na internetovej adrese www.biosystems.es.

Slovenský návod je k dispozícii na www.jktrading.cz.

Výhradný distribútor:

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 prípade mimoriadnych udalostí:

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