

|                                                                                                                                      |                       |                         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------|
| KÓD 44108<br>24 testů                                                                                                                | KÓD 44508<br>60 testů | KÓD 44509<br>120 testů  |
| KÓD 44546 10 x 6 testů                                                                                                               |                       | KÓD 44547 10 x 12 testů |
| SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8 °C                                                                                                                |                       |                         |
| Reagencie pro kvalitativní stanovení anti-nukleárních protilátek<br>Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích. |                       |                         |

## ANTI-NUKLEÁRNÍ PROTILÁTKY HEP-2 (ANA-HEP-2)

Nepřímá imunofluorescence  
HEP-2 BUŇKY

### PRINCIP METODY

Anti-nukleární protilátky (ANA) ze séra se váží na odpovídající antigeny přítomné v HEP-2 buňkách. Výsledný komplex antigen-protilátka je detekován anti-human imunoglobulinem značeným fluoresceinem. Vyhodnocení se provádí pomocí fluorescenčního mikroskopu<sup>1</sup>.

### OBSAH

|                         | Kód 44108   | Kód 44508    | Kód 44509     |
|-------------------------|-------------|--------------|---------------|
| A. Sklíčka              | 4 x 6 testů | 10 x 6 testů | 10 x 12 testů |
| B. PBS (10x)            | 1 x 100 mL  | 1 x 100 mL   | 1 x 100 mL    |
| C+ ANA-Ho poz. kontrola | 1 x 0,3 mL  | 1 x 0,3 mL   | 2 x 0,3 mL    |
| C- Negativní kontrola   | 1 x 0,3 mL  | 1 x 0,3 mL   | 2 x 0,3 mL    |
| D. IgG FITC/Evans       | 1 x 3 mL    | 1 x 3 mL     | 2 x 3 mL      |
| E. Montovací médium     | 1 x 3 mL    | 1 x 3 mL     | 1 x 3 mL      |
| F. Absorpční papír      | 1 x 4       | 1 x 10       | 1 x 10        |

Kód 44546

Kód 44547

|            |            |             |
|------------|------------|-------------|
| A. Sklíčka | 10x6 testů | 10x12 testů |
|------------|------------|-------------|

### SLOŽENÍ

- A. Sklíčka:** HEP-2 buňky v každé jamce.  
**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) homogenního obrazu, azid sodný 0,95 g/L.  
**C- Negativní kontrola** (kód 44696): Lidské sérum, azid sodný 0,95 g/L.  
**D. IgG FITC/Evans:** Kozí anti-human IgG imunoglobulin 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. 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

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

#### Známky zhoršení kvality:

- Kapalně komponenty: Přítomnost částic, zákal
- Sklíčka: natržení sáčku, makroskopické defekty na buněčných kulturách, jako je poškrábání nebo sloupnutí.

### POMOCNÉ REAGENCIE

- Pro kódy 44108, 44508 a 44509 není třeba dalších reagentů.
- Pro kódy 44546 a 44547 je třeba objednat následující reagenty:  
**B. PBS (10x)** (kód 44592)  
**D. IgG FITC/Evans** konjugát (kód 44697-3 ml, nebo 44834-10 ml)  
**E. Montovací médium** (kód 44694)  
 ANA Pozitivní kontroly pro diferenciaci onemocnění:  
**C+. ANA-Ho pozitivní kontrola** (kód 44502): Lidské sérum obsahující Anti-nukleární protilátky (ANA) se zrnitým zobrazením, azid sodný 0,95 g/L.  
**C+. ANA-Sp pozitivní kontrola** (kód 44503): Lidské sérum obsahující Anti-nukleární protilátky (ANA) s nukleolárním zobrazením, azid sodný 0,95 g/L.  
**C+. ANA-Ce pozitivní kontrola** (kód 44585): Lidské sérum obsahující Anti-nukleární protilátky (ANA) s centromerovým obrazem, azid sodný 0,95 g/L.  
**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, reagenty byla dobře uzavřena a nedošlo ke kontaminaci během používání. Všechny ostatní reagenty jsou dodávány připravené k přímému použití.

### DOPLŇUJÍCÍ VYBAVENÍ

- 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. Stabilní po dobu 1 týdne při 2-8 °C.

Sérum zředte 1/80 v PBS (Viz. příprava reagentů). K titraci pozitivních vzorků ředte dvojkovou řadou v PBS, přičemž začnete ředěním 1/160.

Ačkoliv jsou zde uvedena doporučená ředění, každá laboratoř by si měla stanovit svá vlastní podle populační charakteristiky.

### PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte reagenty 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 reagentů) (Pozn. 2).
6. Sklíčka důkladně promyjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.

|                                                                                                                                      |                       |                         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------|
| KÓD 44108<br>24 testů                                                                                                                | KÓD 44508<br>60 testů | KÓD 44509<br>120 testů  |
| KÓD 44546 10 x 6 testů                                                                                                               |                       | KÓD 44547 10 x 12 testů |
| SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8 °C                                                                                                                |                       |                         |
| Reagencie pro kvalitativní stanovení anti-nukleárních protilátek<br>Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích. |                       |                         |

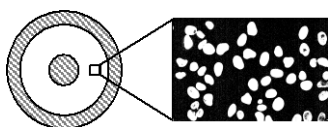
## ANTI-NUKLEÁRNÍ PROTILÁTKY HEP-2 (ANA-HEP-2)

Nepřímá imunofluorescence  
HEP-2 BUŇKY

- 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.

### ODEČÍTÁNÍ

Sklíčka vyhodnocujte s použitím fluorescenčního mikroskopu (zvětšení 250-400 x). Pro lepší výsledky sklíčka vyhodnocujte okamžitě. Pro odečet zvolte část zorného pole mezi střední a krajní zónou v části se stejnou vzdáleností mezi buňkami a se stejnou jasností jader. Intenzita fluorescence v okrajích a ve středu není charakteristická.



Najdete-li specifický fluorescenční obraz, který je níže popsán, při doporučeném ředění vzorku, lze mluvit o pozitivním výsledku.

**ANA:** Existuje několik různých nukleárních a cytoplazmatických fluorescenčních zbarvení vzorů, které jsou považovány za pozitivní výsledek ANA testu. Různá zbarvení vzorů mohou koexistovat ve stejném vzorku séra. Vzory mohou být modifikovány vlivem naředění séra. Hlavní anti-nukleární vzory jsou popsány níže a jsou v souladu s nomenklaturou ICAP (Mezinárodní konsensus o ANA vzorech)<sup>2</sup>.

**AC-1 Nukleární homogenní:** Homogenní, rovnoměrná fluorescence v celé nukleoplazmě. Jadérka mohou být zbarvená, nebo bezbarevná, v závislosti na buněčném substrátu. Mitotické buňky (metafáze, anafáze, telofáze) mají chromatinovou hmotu homogenní, čírou a intenzivně zbarvenou.

**AC-3 Centromerový:** Oddělené, hrubé skvrnky (40-80/buňku) rozptýlené v interfázi buněk a vyrovnané v jedné rovině v chromatinové hmotě mitotických buněk, např. anti-CENP B.

**AC-4 Nukleární jemně zrnitý:** Jemné drobné skvrnky v celé nukleoplazmě. Jadérka mohou být zbarvená nebo nezbarvená. Mitotické buňky (metafáze, anafáze, telofáze) nemají chromatinovou hmotu zbarvenou, např. anti-SS-A/Ro, anti-SSB/La.

**AC - 5 Nukleární hrubě zrnitý:** Hrubé skvrnky v celé nukleoplazmě. Jadérka mohou být zbarvená nebo nezbarvená. Mitotické buňky (metafáze, anafáze, telofáze) nemají chromatinovou hmotu zbarvenou, např. anti-Sm, anti-U1RNP.

**AC-8 Homogenní nukleolární:** Difúzní fluorescence celého jadérka, zatím co metafázová destička se zobrazuje jako nevybarvená, např. anti-PM-Scl, anti-Th/To.

**AC-9 Hrudkovitý nukleolární:** Nepravidelné vybarvení jadérek a Cajalových tělísek s peri-chromozomálním vybarvením metafázových destiček, např. anti fibrillarin.

**AC-21 Cytoplazmatický retikulární/AMA:** Hrubé, zrnité, vláknité zbarvení probíhající celou cytoplazmou, např. anti-mitochondriální protilátky.

Pozitivní séra mohou být titrována. Titr séra je definován jako nejvyšší ředění vykazující pozitivní výsledek. V případě, že není pozorováno výše uvedené specifické zbarvení/fluorescence,

výsledek testu by se měl považovat na tyto autoprotilátky za negativní.

### KONTROLA KVALITY

Aby se verifikovala správnost postupu zkoušky, měla by být Pozitivní (C+) a negativní kontrola (C-) testována společně se vzorkem pacienta za předpokladu, že byla zakoupena se soupravou (kód 44108, 44508 nebo 44509).

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

IgG FITC/Evans a IgG FITC konjugát je kalibrován proti WHO Mezinárodnímu standardu pro FITC značený ovčí anti-human imunoglobulin.

Specifita ANA – Ho pozitivní kontroly byla ověřena proti referenčnímu séru AF/CDC1 z Centra pro infekční kontroly.

### DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

**ANA:** Sensitivita anti-nukleárních protilátek poukazuje z více než 95 % na Systémový lupus erythematoses, ačkoli specifita je velmi nízká<sup>3</sup>.

- **Nukleární homogenní (AC-1):** Svědčí na Systémový lupus erythematoses.

- **Nukleární zrnitý (AC-4, AC-5):** Vysoká pravděpodobnost systémového lupusu erythematoses kombinovaná s pojivovým tkáňovým onemocněním, Sjögrenův syndrom, polymyotitida nebo sklerodermie.

- **Nukleolární (AC-8, AC-9):** Přibližně 50-70 % pacientů s překrývající se sklerodermií a polymyotitidou/dermatomyotitidou. Tento obraz lze nalézt u více než 33 % pacientů se systémovou sklerodermií, speciálně však při renálních komplikacích<sup>3</sup>.

- **Centromerový (AC-3):** protilátky proti centromérám se nachází u pacientů se systémovou sklerózou, zvláště u kožní formy onemocnění (80 %). Tyto protilátky lze občas nalézt u některých pojivových onemocnění<sup>4</sup>.

- **Mitochondriální (AC-21):** Častý u pacientů s primární biliární cirhózou, systémovou sklerózou a vzácně při jiných autoimunitních revmatických chorobách.

Souprava BioSystems ANA protilátek byla testována na 140 sérech pacientů s různým autoimunitním onemocněním: Systémový lupus erythematoses, Sjögrenův syndrom, sklerodermie, CREST syndrom, dermatopolymyozitida, revmatoidní artritida, autoimunitní hepatitida a primární biliární cirhóza. Dále byla testována na zdravých dárkách. Výsledky vykazují diagnostickou senzitivitu od 98,3 % a specifitu od 93 % pro všechna autoimunitní onemocnění.

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.
- Používejte stříčku, nebo pipetu pro promytí. Zabraňte zkřížené kontaminaci mezi vzorky.

|                                                                                                                                      |                       |                         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------|
| KÓD 44108<br>24 testů                                                                                                                | KÓD 44508<br>60 testů | KÓD 44509<br>120 testů  |
| KÓD 44546 10 x 6 testů                                                                                                               |                       | KÓD 44547 10 x 12 testů |
| SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8 °C                                                                                                                |                       |                         |
| Reagencie pro kvalitativní stanovení anti-nukleárních protilátek<br>Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích. |                       |                         |

## ANTI-NUKLEÁRNÍ PROTILÁTKY HEp-2 (ANA-HEp-2)

Nepřímá imunofluorescence  
HEp-2 BUŇKY

### LITERATURA

1. Melnickoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. En: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, Cruvinel WM, Carvalho Francescantonio PL, Fritzler MJ, Garcia-De La Torre I, Herold M, Mimori T, Satoh M, von Mühlen CA and Andrade LEC. Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody Hep-2 cell patterns 2014-2015. *Frontiers in Immunology* 2015; 6: 1-13.
3. Hollingsworth PN et al. Antinuclear antibodies. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. *Autoantibodies*. Elsevier, 1996.
4. Fritzler MJ, Rattner JB. Autoantibodies to the mitotic apparatus: biological breakthroughs, clinical application, etiological complexity. In: Konrad K, Humbel RL, Meurer M, Shonfeld Y and Tan EM, eds. *Autoantigens and Autoantibodies: Diagnostic Tools and Clues to Understanding Autoimmunity*. Pabst Science Publishers, 2000.

### UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 10.4. 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](http://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](mailto: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](mailto: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