

AUTOPROTILÁTKY-MsL / MsK / MsS (AA-MsL / MsK / MsS)

Kód 44826	12x4 testů	Kód 44827	12x8 testů
Skladovat při 2 - 8°C			
Reagencie pro kvalitativní stanovení autoimunitních protilátek. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.		AUTOPROTILÁTKY-MsL / MsK / MsS (AA-MsL / MsK / MsS) Nepřímá imunofluorescence Myší játra/ledviny/žaludek	

PRINCIP METODY

Sérum obsahující autoprotiátky proti jádru (ANA), mitochondriím (AMA), hladké svalovině (ASMA), gastrickým parietálním buňkám (APCA), jaterním-ledvinovým mikrozomům (LKM), retikulínu a dalším se vážou na odpovídající antigeny přítomné v preparátu obsahujícím myší játra, ledviny a žaludek. K detekci komplexu antigen-protilátka je použito sérum s anti-human imunoglobulinem značeným fluoresceinem. Vyhodnocení se provádí fluorescenčním mikroskopem¹.

anti-HCV, a stejně tak na HBs antigen. Nicméně zacházejte s kontrolou jako s potencionálně infekčním materiálem.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

PBS: Naředte reagens B destilovanou vodou v poměru 1/10. Stabilní 1 měsíc při 2-8 ° C, pokud byly dodrženy při skladování doporučené teploty, reagensie byla dobře uzavřena a nedošlo ke kontaminaci během používání. Všechny ostatní reagensie jsou dodávány připravené k přímému použití.

OBSAH

KÓD 44826 KÓD 44827

A. Sklíčka	12 x 4 jamek	12 x 8 jamek
-------------------	---------------------	---------------------

A. Sklíčka: Řezy myších jater, ledvin a žaludku (ML/MK/MS) v každé jamce.

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- Zvlhčovací komůrka
- Promývací nádoba
- Krycí skříčka 24 x 60 mm
- Fluorescenční mikroskop s excitačním filtrem 495 nm a 525nm emisním filtrem pro FITC vizualizaci.

VZORKY

Sérum nebo plazma odebraná standardním postupem. Stabilita po dobu 1 týdne při 2-8°C. Sérum zředte 1/20 v PBS (Viz. příprava reagensie). K titraci pozitivních vzorků ředte dvojkovou řadou v PBS, přičemž začnete ředěním 1/20.

SKLADOVÁNÍ

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

Známky zhoršení kvality:

- Kapalné reagensie: přítomnost částic, zákal
- Sklíčka: natržení sáčku, makroskopické defekty na buněčných kulturách, jako je poškrábání nebo sloupnutí.

POMOCNÉ REAGENCIE

Pro kódy 44826 a 44827 je třeba objednat následující reagensie:

- B. PBS (10x)** (kód 44592): Fosforečnan sodný, fosforečnan draselný, chlorid sodný, azid sodný 0,95 g/L, pH 7,2
- D. FITC/Evans (R)** (kód 44590): Kozí anti-human IgG konjugovaný s fluorescein isotiokyanátem a adsorbovaný s kryším sérem, Evansova modř 0,01 g/L, azid sodný 0,95 g/l.
- E. Montovací médium** (kód 44694): Mowiol, glycerol, Tris, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. ANA-Ho Pozitivní kontrola** (kód 44502): Lidské sérum obsahující anti-nukleární protilátky (ANA) homogenního zobrazení, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. AMA Pozitivní kontrola** (kód 44512): Lidské sérum obsahující protilátky proti mitochondriím (AMA) , 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+. APCA Pozitivní kontrola** (kód 44532): Lidské sérum obsahující protilátky proti parietálním buňkám, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. LKM Pozitivní kontrola** (kód 44766): Lidské sérum obsahující protilátky proti jaterním-ledvinovým mitochondriím, azid sodný 0,95 g/L.
- C-. Negativní kontrola** (kód 44696): Lidské sérum, azid sodný 0,95 g/L.

Lidská séra použitá pro výrobu pozitivní a negativní kontroly byla testována a shledána negativní na přítomnost protilátek anti-HIV a

PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte reagensie a vzorky na pokojovou teplotu.
2. Kápněte 1 kapku (50 µL) naředěného vzorku, nebo kontroly do každé jamky s tkáňovým řezem. Ujistěte se, že je řez kompletně pokrytý. (Poznámka 1).
3. Inkubujte sklíčka 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
4. Vysušte sklíčko opatrným nakloněním a poklepáním o filtrační papír. Zabraňte zkřížené kontaminaci mezi vzorky.
5. Opláchněte krátce v lehkém proudu PBS (viz. příprava reagentu) (Pozn. 2).
6. Sklíčka důkladně promyjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.
7. Opatrně sklíčko osušte s použitím speciálního odsávacího papíru. Jamky nevysušujte, musí zůstat vlhké po celou dobu procedury.
8. Do každé jamky přidejte 1 kapku reagensie 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 reagensie E a opatrně přikryjte krycím sklíčkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČÍTÁNÍ

Skříčka vyhodnocuje fluorescenčním mikroskopem (zvětšení 250-400x). Pro lepší výsledky skříčka vyhodnocuje 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.

AMA: Granulární fluorescence mitochondrií v cytoplazmě tubulárních buněk ledvin.

ASMA: Fluorescence svalové mukózy, svalových vrstev cév a interglandulárních vláken myšího žaludku.

APCA: Retikulární nitro-buněčné zbarvení parietálních buněk myší žaludeční sliznice.

LKM: Typ I. Silné zbarvení cytoplazmy hepatocytů v játrech a

AUTOPROTILÁTKY-MsL / MsK / MsS (AA-MsL / MsK / MsS)

Kód 44826	12x4 testů	Kód 44827	12x8 testů
Skladovat při 2 - 8°C			
Reagencie pro kvalitativní stanovení autoimunitních protilátek. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.			

**AUTOPROTILÁTKY-MsL / MsK / MsS
(AA-MsL / MsK / MsS)**
Nepřímá imunofluorescence
Myši játra/ledviny/žaludek

cytoplazmy v proximálních tubulech 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-) 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 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 značený ovčí anti-human imunoglobulin.

Specifita ANA-Ho Pozitivní kontroly byla ověřena proti AF/CDC-1 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 mitochondriálních protilátek je spojená s primární biliární cirhózou u více než 95% pacientů^{3,4}.

ASMA: Protilátky proti hladké svalovině se nachází v séru 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: Protilátky proti LKM typu I jsou markerem pro autoimunitní hepatitidu typu II⁸.

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

POZNÁMKA

1. Nedotýkejte se tkáňových řezů v jamkách během zkoušky.
2. Použijte stříčku, nebo pipetu na promytí. Zabraňte zkrřížené kontaminaci.

LITERATURA

1. Melnicoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. In: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Hollingsworth PN et al. Antinuclear antibodies. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.
3. Leung PSC et al. Mitochondrial Autoantibodies. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.
4. MacKay IR, and Gershwin ME. The autoantibodies 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.

5. Whittingham S and Mackay IR. Smooth muscle autoantibodies. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.

6. Jacob G and Schoenfeld Y. Actin autoantibodies. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.

7. Gleeson PA et al. Parietal Cell Autoantibodies. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.

8. Homberg JC, et al. Chronic active hepatitis associated with anti liver/kidney microsome antibody type 1: a second type of "autoimmune" hepatitis. Hepatology 1987,7(6):1333-9

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 27.12.21.

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.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