



AUTOPROTILÁTKY (AA-RL/RK/RS)



Kód 44158 16 testov	Kód 44558 48 testov	Kód 44648 96 testov
Kód 44570 12 x 4 testov		Kód 44639 12 x 8 testov
Skladovanie pri 2 - 8°C		
Reagencie na kvalitatívne stanovenie autoprotílátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku		

AUTOPROTILÁTKY (AA-RL/RK/RS) Nepriama imunofluorescencia Krysia pečenn/obličky/žalúdok

PRINCÍP METÓDY

Autoprotílátky zo séra proti jadru (ANA), proti mitochondriám (AMA), proti hladkému svalstvu (ASMA), proti žalúdočným parietálnym bunkám (APCA), proti žalúdočným a pečenným mikrozómam (LKM), proti retikulínu a iným, sa viažu na odpovedajúci antigén prítomný v preparáte obsahujúcom krysiu pečenn, obličky a žalúdok. Výsledný komplex antigén-protilátka je detekovaný pomocou anti-luského imunoglobulínu značeného fluoresceínom. Vyhodnotenie sa uskutočňuje pomocou fluorescenčného mikroskopu. ¹

OBSAH

	Kód 44158	Kód 44558	Kód 44648
A. sklička	4 x 4 jamiek	12 x 4 jamiek	12 x 8 jamiek
B. PBS (10x)	1x100ml	1x100ml	1x100ml
C+. ANA-Ho pozitívna kontrola	1x0,3ml	1x0,3ml	1x0,3ml
C+. AMA pozitívna kontrola	1x0,3ml	1x0,3ml	1x0,3ml
C+. ASMA pozitívna kontrola	1x0,3ml	1x0,3ml	1x0,3ml
C-. Negatívna kontrola	1x0,3ml	1x0,3ml	1x0,3ml
D. IgG FITC/Evans(R)	1x3,5ml	1x3,5ml	2x3,5ml
E. Montovacie médium	1x3ml	1x3ml	1x3ml
F. Savý papier	1x4	1x12	1x12

	Kód 44570	Kód 44639
A. sklička	12x4 jamiek	12x8 jamiek

ZLOŽENIE

- A. Sklička** : časti krysej pečene, obličiek a žalúdka
- B. PBS(10x)** : Fosforečnan sodný 112,5 mmol/l, fosforečnan draselný 30mmol/l, chlorid sodný 1,15mol/l, azid sodný 0,95g/l, pH 7,2
- C+.** **ANA-Ho Pozitívna kontrola** : ľudské sérum obsahujúce anti-nukleárne protílátky (ANA) homogénneho obrazu, azid sodný 0,95 g/l
- C+.** **AMA Pozitívna kontrola** : ľudské sérum obsahujúce anti-mitochondriálne protílátky (AMA), azid sodný 0,95 g/l
- C+.** **ASMA Pozitívna kontrola** : ľudské sérum obsahujúce protílátky proti hladkému svalstvu (ASMA), azid sodný 0,95 g/l
- C-.** **Negatívna kontrola** : ľudské sérum, azid sodný 0,95g/l
- D.** **IgG FITC/Evans** : kozí anti-luský IgG konjugovaný s fluoresceín izotiokyanátom (FITC), Evansova modrá 0,01g/l, azid sodný 0,95g/l
- E.** **Montovacie médium** : Mowiol 12%, glycerol 30%, Tris 20mmol/l, azid sodný 0,95g/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 potencionálne 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.

Príznyky zhoršenia kvality :

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

POMOCNÉ REAGENCIE

- B. PBS (10x)**
- D. FITC/Evans (R)**, konjugát s Evansovou modrou pre kvalitnejšie rozlíšenie
- E. Montovacie médium**
- C+.** **ANA-Sp Pozitívna kontrola** : Ľudské sérum obsahujúce anti-nukleárne protílátky zrnitého obrazu, azid sodný 0,95g/l
- C+.** **ANA-Nu Pozitívna kontrola** : Ľudské sérum obsahujúce anti-nukleárne protílátky nukleolárneho obrazu, azid sodný 0,95g/l
- C+.** **APCA Pozitívna kontrola** : Ľudské sérum obsahujúce protílátky proti parietálnym bunkám, azid sodný 0,95g/l
- C+.** **LKM Pozitívna kontrola** : Ľudské sérum obsahujúce protílátky proti mikrozómam pečene-obličiek-žalúdka (LKM), azid sodný 0,95g/l
- C+.** **ANA-Ho Pozitívna kontrola**
- C+.** **AMA Pozitívna kontrola**
- C+.** **ASMA Pozitívna kontrola**
- C-.** **AEA Negatívna kontrola**

PRÍPRAVA REAGENCIÍ

PBS: Reagenciu B nariedte 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
- premývacie zariadenie
- krycie sklička 24x60 mm
- fluorescenčný mikroskop s excitačným filtrom 495nm a 525 nm emisným filtrom pre FITC vizualizáciu



AUTOPROTILÁTKY (AA-RL/RK/RS)



Kód 44158 16 testov	Kód 44558 48 testov	Kód 44648 96 testov
Kód 44570 12 x 4 testov		Kód 44639 12 x 8 testov
Skladovanie pri 2 - 8°C		
Reagencie na kvalitatívne stanovenie autoprotílátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku		

AUTOPROTILÁTKY (AA-RL/RK/RS) Nepriama imunofluorescencia Krysia pečenných/obličkových žalúdok

VZORKY

Sérum alebo plazma odobraná štandardným spôsobom.
Stabilita – 1 týždeň pri 2 – 8°C.
Vzorku pred testovaním zriedte v pomere 1/20 PBS – viď príprava reagencií. Na titráciu pozitívnych vzoriek zriedte dvojkovým radom v PBS – začnite riedením 1/20.

POSTUP

- Vytemperujte všetky činidlá a vzorky na izbovú teplotu.
- Aplikujte 1 kvapku (50µl) nariadenej vzorky alebo kontroly do každej jamky. Uistite sa, že tkanivo je kompletne pokryté. (Poznámka1)
- Sklička dajte do zvlhčovacej komôrky a inkubujte 30 minút pri izbovej teplote (15-30°C).
- Skličko nakloňte a opatrným poklepaním o filtračný papier odstráňte prebytočné kvapky vzorky. Zabráňte skríženej kontaminácii.
- Zľahka opláchnite reagenciu PBS (viď **PRÍPRAVA REAGENCIÍ**). (Poznámka2)
- 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. Vo zvlhčovacej komôrke inkubujte 30minút pri izbovej teplote.
- 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 vyhodnocujte pomocou fluorescenčného mikroskopu (zväčšenie 250-400x). Aby ste dosiahli najlepšie výsledky, vyhodnocujte sklíčka okamžite. Zvoľte vnútornú časť tkanivového rezu. Intenzita fluorescencie na okrajoch nie je charakteristická. V prípade, že pri odporúčanom riedení nájdete špecifický obraz, ktorý je popísaný nižšie, je možné výsledok považovať za pozitívny.

ANA- homogénny : Obraz je homogénny, rovnomerná fluorescencia vo všetkých častiach jadra buniek v interfáze. Silná fluorescencia buniek v mitóze.

AMA : Zrnitá fluorescencia mitochondrií v cytoplazme tubulárnych buniek obličiek.

ASMA : Fluorescencia svalovej mukózy, svalovej vrstvy ciev a interglandulárnych vlákien krysieho žalúdka.

APCA : Retikulárne vnútrobunkové sfarbenie parietálnych buniek kryšej žalúdočnej sliznice.

LKM : Typ I. Silná fluorescencia cytoplazmy hepatocytov v pečeni a cytoplazmy proximálnych tubulov v obličkách.

Distálne tubuly sú negatívne.

Pozitívne séra je možné titrovať. Titer séra je definovaný ako najvyššie riedenie dávajúce pozitívny výsledok.

Ak nie je pozorovaná žiadna z vyššie uvedených typov fluorescencie, výsledok považujte za negatívny na tieto protílátky.

KONTROLA KVALITY

Pozitívne kontroly (C+) a negatívna kontrola (C-) by mala byť testovaná spoločne so vzorkou pacienta, ak bola zakúpená so súpravou kód 44158, 44558, alebo 44648, aby bolo verifikované správne prevedenie testu.

Pozitívna kontrola (C+) by mala vykazovať vyššie popísaný špecifický obraz.

Negatívna kontrola (C-) by nemala dávať žiaden 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

FITC/Evans (R) konjugát je kalibrovaný oproti WHO Medzinárodnému štandardu pre ovčie anti-ludský imunoglobulín konjugovaný s FITC.

Špecifická ANA-Ho pozitívnej kontroly bola overená oproti AF/CDC1 referenčnému ľudskému séru z Centra pre kontroly ochorení /Arthritis Foundation.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

ANA : Senzitivita antinukleárných protílátok je vyššia ako 95% v prípade ochorenia na systémový lupus erythematosus, ale špecifita je dosť nízka.²

AMA : Prítomnosť mitochondriálnych protílátok je spojená s primárnou biliárnou cirhózou u viacej ako 95% pacientov.^{2,3}

ASMA : protílátky proti hladkému svalstvu sa nachádzajú v sére u 52-85% pacientov s autoimunitnou chronickou aktívnou hepatitídou a u 22% pacientov s primárnou biliárnou cirhózou.^{5,6}

APCA : protílátky proti žalúdočným parietálnym bunkám sa nachádzajú u 90% pacientov so zhubnou anémiou a zvyčajne sú spojené i s ďalšími špecifickými tkanivovými autoimunitnými ochoreniami.⁷

LKM : Protílátky proti LKM typu I sú považované za markery autoimunitnej hepatitídy typu IIb.

Súprava BioSystems autoprotílátky -RL/RK/RS bola použitá pri testovaní sér od 188 pacientov s rôznymi autoimunitnými ochoreniami, ako aj od zdravých darcov.

Výsledky sú popísané nižšie.



AUTOPROTILÁTKY (AA-RL/RK/RS)



Kód 44158 16 testov	Kód 44558 48 testov	Kód 44648 96 testov
Kód 44570 12 x 4 testov		Kód 44639 12 x 8 testov
Skladovanie pri 2 - 8°C		
Reagencie na kvalitatívne stanovenie autoprotílátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku		

AUTOPROTILÁTKY (AA-RL/RK/RS) Nepriama imunofluorescencia Krysia pečeň/obličky/žalúdok

Choroba	Poč.	ANA	AMA	ASMA
Pečeňové ochorenia	46	-	41	17
primárna biliárna cirhóza	24	-	22	5
cholangitída	10	-	8	4
autoimunitná hepatitída	12	-	11	8
Choroby spojivových tkanív	93	93	-	
SLE	31	31	-	-
Sjögrenov syndróm	11	11	-	-
sklerodermia	7	7	-	-
CREST syndróm	3	3	-	-
reumatoidná artritída	11	11	-	-
dermatopolymyozititída	2	2	-	-
ostatné	28	28	-	-
Iné autoimunitné ochorenia	25	0	0	0
Megaloblastická anémia	3	0	0	0
Celiakia	7	0	0	0
Thyroiditída	9	0	0	0
Good Pasture syndróm	2	0	0	0
Ostatné (vaskulitída, AFL)	4	0	0	0
Zdraví darcovia	24	0	0	0

Klinická diagnóza nemôže byť stanovená na základe výsledkov jediného testu, musí byť posúdená na základe klinických i laboratórných údajov.

POZNÁMKY

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

LITERATÚRA

- Melnicoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. In: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
- Hollingsworth PN et al. Antinukleární protílátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotílátky. Elsevier, 1996.
- Leung PSC et al. Mitochondrial Autoprotílátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotílátky. Elsevier, 1996.
- MacKay IR, and Gershwin ME. The autoprotílátky 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 autoprotílátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotílátky. Elsevier, 1996.
 - Jacob G and Schoenfeld Y. Actin autoprotílátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotílátky. Elsevier, 1996.
 - Gleeson PA et al. Parietal Cell Autoprotílátky. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoprotílátky. Elsevier, 1996.
 - Homborg 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

UPOZORNENIE

Slovenský preklad k 3.9.2019.
Vzhľadom k novej inovácii výroby 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., Křivátcová 421/5, 150 21 Praha 5,
tel.: +420 257 220 760

SK : JK-Trading spol.s.r.o., Mečíkova 30, 841 07 Bratislava,
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