



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



KÓD 44108 24 testů	KÓD 44508 60 testů	KÓD 44509 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 Pouze pro in vitro 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 mikroskopu¹.

OBSAH

		Kód 44108	Kód 44508	Kód 44509
A.	Sklička	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 medium	1 x 3 mL	1 x 3 mL	1 x 3 mL
F.	Vysoušecí papír	1 x 4	1 x 10	1 x 10

	Kód 44546	Kód 44547
A. Sklička	10x6 testů	10x12 testů

SLOŽENÍ

- A. Sklička:** HEP-2 buňky v každé jamce.
- B. PBS (10x):** Fosforečnan sodný 112,5 mmol/L, fosforečnan draselný 30 mmol/L, chlorid sodný 1,15 mol/L, azid sodný 0,95 g/L. pH 7,2.
- C+. ANA-Ho pozitivní kontrola:** Lidské sérum obsahující anti-nukleární protilátky (ANA) homogeního 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 medium:** Mowiol 12 %, Glycerol 30 %, Tris 20 mmol/L, 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 potencionálně infekčním materiálem.

SKLADOVÁNÍ

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

Znamky zhoršení kvality:

- Kapalně komponenty: Přítomnost částic, zákal
- Sklička: 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 medium (kód 44694)

ANA Pozitivní kontroly pro diferenciaci onemocnění:

C+. ANA-Ho pozitivní kontrola

C+. ANA-Sp pozitivní kontrola (kód 44503): Lidské sérum obsahující Anti-nukleární protilátky (ANA) se zrnitým zobrazením, azid sodný 0,95 g/l

C+. ANA-Nu pozitivní kontrola (kód 44504): 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

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, reagent byl dobře uzavřen a nedošlo ke kontaminaci během jeho používání. Všechny ostatní reagenty jsou dodávány připravené k přímému použití.

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- Zvlhčovací komůrka
- Promývací nádoba
- Krycí sklička 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 populačního charakteru obyvatel.

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 sklička 30 minut při pokojové teplotě (15 -30°C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
4. Nakloňte skličko 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. Sklička důkladně promyjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.
7. Opatrně skličko osušte s použitím speciálního odsávacího papíru. Jamky nevysušujte, musí zůstat vlhké po celou dobu procedury.

KÓD 44108 24 testů	KÓD 44508 60 testů	KÓD 44509 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 Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.		

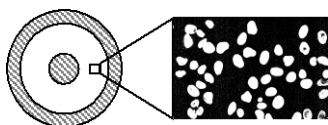
ANTI-NUKLEÁRNÍ PROTILÁTKY HEP-2 (ANA-HEP-2)

Nepřímá imunofluorescence
HEP-2 BUŇKY

- Do každé jamky přidejte 1 kapku reagentu 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 reagentu E a opatrně přikryjte krycím sklíčkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČÍTÁNÍ

Sklička 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 antinukleární vzory jsou popsány níže a jsou v souladu s nomenklaturou ICAP (Mezinárodní konsensus o ANA vzorech)²:

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 a telofáze) mají chromatinovou hmotu homogenní, čirou 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-nepřavidelné 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 za negativní na tyto autoprotilátky.

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

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 rozptětí.

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: Senzitivita antinukleárních protilátek poukazuje z více než 95% na Systémový lupus erythematosus, ačkoliv specifita je velmi nízká³.

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

- **Nukleární zrnitý (AC-4, AC-5):** Vysoká pravděpodobnost systémového lupusu erythematosus 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 komplikacích³.

- **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 onemocnění⁴.

- **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 erythematosus, Sjögrenův syndrom, sklerodermie, CREST syndrom, dermatopolymyozitida, revmatoidní artritida, autoimunitní hepatitida a primární biliární cirhóza. Dále byla testována na zdravých dárcích. 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.

POZNÁMKA

- Nedotýkejte se tkáňových řezů v jamkách během zkoušky.
- Použijte stříčku, nebo pipetu na promytí. Zabraňte zkřížené kontaminaci mezi vzorky.

LITERATURA

KONTROLA KVALITY



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



KÓD 44108 24 testů	KÓD 44508 60 testů	KÓD 44509 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 Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.		

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

Nepřímá imunofluorescence
HEP-2 BUNĚKY

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, Fritzier 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. Fritzier 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: 29.8.2019.

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 Praha5,
tel.: +420 257 220 760

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