



ANTI – NUKLEÁRNE PROTILÁTKY HEP-2 (ANA-HEP-2)



Kód 44108 24 testov	Kód 44508 60 testov	Kód 44509 120 testov	ANTI – NUKLEÁRNE PROTILÁTKY Hep-2 (ANA – Hep - 2) Nepriama imunofluorescencia Hep – 2 bunky
Kód 44546 10x 6 testov	Kód 44547 10 x 12 testov		
Skladovanie pri 2 - 8°C			
Reagencie na kvalitatívne stanovenie anti-nukleárných protilátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku			

PRINCÍP METÓDY

Anti- nukleárne protilátky zo séra sa viažu na odpovedajúci antigén prítomný v Hep-2 bunkách. Výsledný komplex antigén-proti látka je detekovaný pomocou anti-luskeho imunoglobulínu značeného fluoresceínom. Vyhodnotenie sa uskutočňuje pomocou fluorescenčného mikroskopu. ¹

OSAH

	kód 44108	Kód 44508	Kód 44509
A. sklička	4 x 6 testov	10 x 6 testov	10 x 12 testov
B. PBS (10x)	1x100ml	1x100ml	1x100ml
C+. ANA-Ho 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 44546	Kód 44574
A. sklička	10x6 testov	10x12 testov

ZLOŽENIE

- A. Sklička :** Hep-2 bunky v každej jamke
- B. PBS(10x) :** Fosforečnan sodný 112,5 mmol/l, fosforečnan draselný 30mmol/l, azid sodný 0,95g/l. pH 7,2
- C+.** **ANA-Ho Pozitívna kontrola :** ľudské sérum obsahujúce anti-nukleárne protilátky (ANA) homogénneho obrazu, azid sodný 0,95 g/l
- C-.** **Negatívna kontrola (kód 44696) :** ľudské sérum, azid sodný 0,95g/l
- D. IgG FITC/Evans :** kozí anti-ludský 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 bunčných kultúrach, ako je poškrabanie dna jamiek, odlúpnutie.

POMOCNÉ REAGENCIE

- pre kódy 44108, 44508 a 44509 nie je potrebné objednávať ďalšie reagencie
- pre kódy 44546 a 44547 je potrebné objednať nasledujúce reagencie :

B. PBS (10x) (kód 44592)

D. IgG FITC/Evans, konjugát s Evansovou modrou pre kvalitnejšie rozlíšenie (kód 44697 – 3ml, alebo 44834 – 10ml)

E. Montovacie médium (kód 44694)

C+. **ANA-Ho Pozitívna kontrola**

C+. **ANA Sp Pozitívna kontrola :** Ľudské sérum obsahujúce anti-nukleárne protilátky (ANA) so zrnitým obrazom, azid sodný 0,95g/l (kód 44503)

C+. **ANA-Nu Pozitívna kontrola :** Ľudské sérum obsahujúce anti-nukleárne protilátky (ANA) s nukleolárnym obrazom, azid sodný 0,95g/l (kód 44504)

C+. **ANA-Ce Pozitívna kontrola :** Ľudské sérum obsahujúce anti-nukleárne protilátky (ANA) s centromérovým obrazom, azid sodný 0,95g/l (kód 44585)

C-. **Negatívna kontrola**

PRÍPRAVA REAGENCIÍ

PBS: Reagenciu B naředte 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

VZORKY

Sérum alebo plazma odobraná štandardným spôsobom. Stabilita – 7 dní pri 2 – 8°C.
Vzorku pred testovaním zriedte v pomere 1/80 PBS – vid' príprava reagentov. Na titráciu pozitívnych vzoriek riedte

Kód 44108 24 testov	Kód 44508 60 testov	Kód 44509 120 testov	<h2>ANTI – NUKLEÁRNE PROTILÁTKY Hep-2 (ANA – Hep - 2)</h2> <p>Nepriama imunofluorescencia Hep – 2 bunky</p>
Kód 44546 10x 6 testov		Kód 44547 10 x 12 testov	
Skladovanie pri 2 - 8°C			
Reagencie na kvalitatívne stanovenie anti-nukleárných protilátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku			

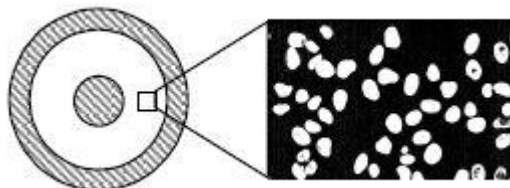
dvojkovým radom v PBS – začnite riedením 1/160. Aj keď sa tu uvádzajú odporúčané riedenia, každé laboratórium by si malo stanoviť svoje vlastné, podľa populačného charakteru obyvateľov.

POSTUP

1. Vytemperujte všetky činidlá na izbovú teplotu.
2. Aplikujte 1 kvapku (50µl) nariadenej vzorky alebo kontroly do každej jamky s tkanivovým rezom (A). Uistite sa, že rez je kompletne pokrytý. (Poznámka1)
3. Sklíčka dajte do zvlhčovacej komôrky a inkubujte 30 minút pri izbovej teplote (15-30°C).
4. Sklíčko nakloňte a opatrným poklepávaním o filtračný papier odstráňte prebytočné kvapky vzorky. Zabráňte skříženej kontaminácii.
5. Zľahka opláchnite reageniou PBS (vid' **PRÍPRAVA REAGENCIÍ**). (Poznámka2)
6. Sklíčka premývajte 5 minút v nádobe obsahujúcej PBS. Potom PBS vymeňte a premývanie zopakujte.
7. Sklíčko opatrne osušte špeciálnym odsávacím papierom.
8. Jamky musia zostať vlhké v priebehu celej procedúry, preto ich nevysušujte.
9. Premývajte podľa bodu 6 a osušte podľa bodu 7.
10. Do každej jamky pridajte niekoľko kvapiek reagentu E a opatrne prekryte krycím sklíčkom tak, aby nevznikli vzduchové bubliny.

ODČÍTANIE

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



jamka

vybraná časť zorného poľa

Ak nájdete pri odporúčanom riedení vzorky špecifický fluorescenčný obraz, ktorý je uvedený nižšie, je možné hovoriť o pozitívnom výsledku.

ANA : Existuje niekoľko rôznych nukleárných a cytoplazmatických vzorov s fluorescenčným sfarbením, ktoré sú považované za pozitívny výsledok ANA testu. Rôzne typy vzorov môžu koexistovať v jednej vzorke séra. Vzory môžu byť modifikované vplyvom nariadenia séra. Hlavné antinukleárne vzory sú opísané v nasledujúcom texte a sú v súlade s nomenklatúrou ICAP (Medzinárodný konsenzus o ANA vzoroch)².

AC-1 Nukleárny homogénny : Homogénna, rovnomerná fluorescencia v celej nukleoplazme. Jadierka môžu byť sfarbené alebo bezfarebné v závislosti od buncného substrátu. Mitotické bunky (metafáza, anafáza a telofáza) majú chromatinovú hmotu čiru, homogénnu, intenzívne zafarbenú.

AC-3 Centromerový : Oddelené, hrubé škvrny (40-80/bunka) rozptýlené v interfáze buniek a vyrovnané v jednej rovine v chromatinovej hmote mitotických buniek, napr. Anti – CEP B.

AC-4 Nukleárny jemne zrnitý : Jemné, drobné škvrny v celej nukleoplazme. Jadierka môžu byť sfarbené alebo bezfarebné . Mitotické bunky (metafáza, anafáza a telofáza) nemajú chromatinovú hmotu zafarbenú, napr.: anti -SS-A/Ro, anti-SSB/La.

AC-5 Nukleárny hrubo zrnitý : Hrubé škvrny v celej nukleoplazme. Jadierka môžu byť sfarbené alebo bezfarebné . Mitotické bunky (metafáza, anafáza a telofáza) nemajú chromatinovú hmotu zafarbenú, napr.: anti-SM, anti-U1RNP.

AC-8 Homogénny nukleolárny : Difúzna fluorescencia celého jadierka, metafázová doštička sa zobrazuje ako nevyfarbená, napr. : Anti-PM-Scl, anti-Th/To.

AC-9 Zrnitý nukleolárny : Nepravidelné vyfarbenie jadierok a Cajalových teliesok s peri-chromozomálnym vyfarbením metafázových doštičiek, napr. anti fibrillarín.

AC-21 Cytoplazmatický retikulárny/AMA – hrubé, zrnité, vláknité sfarbenie prebiehajúce celou cytoplazmou, napr. anti-mitochondriálne protilátky.

Pozitívne séra môžu byť titrované. Titer séra je definovaný ako najvyššie riedenie vykazujúce pozitívny výsledok. V prípade, že nie je pozorované vyššie uvedené špecifické sfarbenie/fluorescencia, výsledok testu by sa mal považovať za negatívny na tieto autoprotilátky.

KONTROLA KVALITY

Pozitívna (C+) a negatívna kontrola (C-) by mala byť testovaná spoločne so vzorkou pacienta ak bola zakúpená so súpravou kód 44108, 44508, alebo 44509, 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.



ANTI – NUKLEÁRNE PROTILÁTKY HEP-2 (ANA-HEP-2)



Kód 44108 24 testov	Kód 44508 60 testov	Kód 44509 120 testov	ANTI – NUKLEÁRNE PROTILÁTKY Hep-2 (ANA – Hep - 2) Nepriama imunofluorescencia Hep – 2 bunky
Kód 44546 10x 6 testov		Kód 44547 10 x 12 testov	
Skladovanie pri 2 - 8°C			
Reagencie na kvalitatívne stanovenie anti-nukleárných protilátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku			

CHARAKTERISTIKA TESTU

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

Špecifická ANA-Ho pozitívnej kontroly bola overená oproti referenčnému séru AF/CDC1 z Centra pre infekčné kontroly.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

ANA : Senzitivita antinukleárných protilátok poukazuje z viac ako 95% na Systémový lupus erythematosus, aj keď je špecifická veľmi nízka.³

AC-1 Nukleárny homogénny : Ukazuje na systémový lupus erythematosus.

AC-4, AC-5 Nukleárny zrnitý : Vysoká pravdepodobnosť systémového lupusu erythematosus kombinovaná s ochorením spojivového tkaniva, Sjögrenov syndróm, polymyotitída alebo sklerodermia.

AC-8, AC-9 Nukleolárny : Približne 50-70% pacientov s prekrývajúcou sa sklerodermiou a polymyotitídou / dermato – myotitídou. Tento obraz je možné nájsť u viac než 33% pacientov so systémovou sklerodermiou , špeciálne však pri renálnych komplikáciách.³

AC-3 Centromerový : protilátky proti centroméram sa nachádzajú u pacientov so systémovou sklerózou, najmä u kožnej formy tejto choroby (80%). Tieto protilátky je možné občas nájsť u niektorých ochorení spojivového tkaniva.⁴

AC-21 Mitochondriálny : Častý u pacientov s primárnou biliárnou cirhózou, systémovou sklerózou a zriedka pri iných autoimunitných reumatických ochoreniach.

Súprava BioSystems ANA bola testovaná na 140 sérach pacientov s rôznymi autoimunitnými chorobami : Systémový lupus erythematosus, Sjögrenov syndróm, sklerodermia, CREST syndróm, dermatopolymyozitída, reumatoidná artritída, autoimunitná hepatitída a primárna biliárna cirhóza. Ďalej bola testovaná na zdravých darcoch. Výsledky vykazujú diagnostickú senzitivitu od 98,3% a špecifitu od 93% pre všetky autoimunitné choroby.

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

POZNÁMKY

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

LITERATÚRA

1. Melnicoff 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.

UPOZORNENIE

Slovenský preklad k 3.9.2019

Vzhľadom k možnej inovácii výrobku sa odporúča prekontrolovať slovenský preklad s originálnym príbalovým letákom tak, že sa porovnajú identifikačné čísla uvedené v zápätí. 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., 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