


PROTILÁTKY PROTI OSTRŮVKŮM PANKREATU (AICA)

Kód 44609	48 testů	PROTILÁTKY PROTI OSTRŮVKŮM PANKREATU (AICA) Nepřímá imunofluorescence  Opičí pankreas
Kód 44572	12x4 testů	
Skladovat při 2 - 8°C		
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek proti ostrůvkům pankreatu. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.		

PRINCIP METODY

Sérové protilátky proti buňkám ostrůvků pankreatu (AICA) se vážou na odpovídající antigeny přítomné v řezu opičího pankreatu. K detekci komplexu antigen-protilátka je použito sérum s anti-human imunoglobulinem značeným fluoresceinem. Vyhodnocení se provádí fluorescenčním mikroskopem¹.

Obsah

KÓD 44609	
A. Sklíčka	12 x 4 testů
B. PBS-10x	1 x 100 mL
C-. Negativní kontrola	1 x 0,3 mL
D. FITC/Evans (M)	1 x 3,5 mL
E. Montovací medium	1 x 3 mL
F. Odsávací papír	1 x 12

KÓD 44572	
A. Sklíčka	12 x 4 testů

SLOŽENÍ

- A. Sklíčka.** Tkáňový řez opičí slinivky břišní (MP) 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-. Negativní kontrola: Lidské sérum, azid sodný 0,95 g/L.
D. IgG FITC/Evans (M): Kozí anti-human IgG konjugovaný s fluorescein isothiokyanátem (FITC) a adsorbovaný s opičím sérem, 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 použítá při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a sledována 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 kontaminaci v průběhu jejich užívání.

Známky zhoršení kvality:

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

POMOCNÉ REAGENTY

- **Pro kód 44609** nejsou potřeba další pomocné reagenty.
- **Pro kód 44572** je třeba objednat následující reagenty:
- B. PBS-10x** (kód 44 592)
- D. IgG FITC/Evans(M)** - kód 44 847, opičí konjugát s Evansovou modří
- E. Montovací medium** (kód 44 694)
- C+. Pozitivní kontrola:** Lidské sérum obsahující anti-ostrůvkové buněčné protilátky (AICA), azid sodný 0,95 g/L.
- C-. Negativní kontrola:** (kód 44 696)

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.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

Při manipulaci se všemi laboratorními činidly dodržujte obvyklá preventivní opatření. Bezpečnostní list je k dispozici pro profesionální uživatele na vyžádání. Likvidace veškerého odpadu by měla být provedena v souladu s místními směrnicemi.

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

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

VZORKY

Sérum nebo plazma odebraná standardním postupem. Stabilní po dobu 1 týdne při 2-8°C.
 Sérum zředte 1/4 v PBS (Viz. příprava reagentu). K titraci pozitivních vzorků ředte dvojkovou řadou v PBS, přičemž začnete ředěním 1/4.


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. (Poznámka 2).
4. Nakloňte sklíčko a opatrným poklepáváním o filtrační papír odstraňte přebytečné kapky vzorku. Zabraňte cross-kontaminaci.
5. Sklíčka opláchněte krátce v lehkém proudu PBS (viz. příprava reagentu) (Poznámka 3).
6. Sklíčka pořádně promyjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.
7. Opatrně sklíčko osušte s použitím speciálního odsávacího papíru. Tkáňový řez nevysušujte, musí zůstat vlhký po celou dobu procedury.
8. Do každé jamky přidejte 1 kapku reagentu 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 reagentu E a opatrně přikryjte krycím sklíčkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČÍTÁNÍ

Sklíčka vyhodnocujte s použitím fluorescenčního mikroskopu (zvětšení 250-400x). Pro lepší výsledky sklíčka vyhodnocujte okamžitě. Pro odečet zvolte vnitřní část tkáňového řezu, intenzita fluorescence v okrajích není charakteristická. Séra vykazující intracelulární zbarvení s granulárním (zrnitým) vzhledem se doporučuje zředit, protože by mohly být považovány za pozitivní.

PROTILÁTKY PROTI OSTRŮVKŮM PANKREATU (AICA)

Kód 44609 48 testů	PROTILÁTKY PROTI OSTRŮVKŮM PANKREATU (AICA) Nepřímá imunofluorescence Opičí pankreas 
Kód 44572 12x4 testů	
Skladovat při 2 - 8°C	
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek proti ostrůvkům pankreatu. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.	

Pozitivní séra mohou být titrována. Titr séra je definován jako nejvyšší zředění dávající pozitivní výsledek. Jestliže nebyl nalezen specifický obraz, výsledek testu se hodnotí jako negativní pro tyto protilátky.

KONTROLA KVALITY

Pozitivní kontrola (C+) a Negativní kontrola (C-) kód 44696 by měla být testována společně se vzorkem pacienta, aby se verifikovala pravdivost 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, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

CHARAKTERISTIKA TESTU

- IgG FITC/Evans(M) konjugát je kalibrován proti WHO Mezinárodnímu standardu pro FITC značený ovčí anti-human IgG immunoglobulin pro důkaz protilátek v lidském séru.
- Specifita AICA pozitivní kontroly byly verifikována proti internímu referenčnímu séru.
- Výsledky získané se soupravou BioSystems AICA ve srovnávací studii s protilátkami anti-GAD a anti-IA2 vykazaly velmi dobrou shodu. Detaily této srovnávací studie jsou k dispozici na vyžádání.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Nepřímá imunofluorescence je konvenční metoda pro stanovení protilátek proti ostrůvkům pankreatu (AICA). Tyto protilátky jsou užitečnými markery patologických procesů, které mají za následek destrukci beta buněk při diabetu typu I^{2,3}. BioSystems AICA souprava byla použita při testování 128 sér, 78 bylo od pacientů s onemocněním diabetes melitus I a 50 od dárců krve. Výsledky získané tímto stanovením vykazaly 65% senzitivitu a 100% specifitu. 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. Pro zlepšení odečtu výsledků inkubujte sklíčko přes noc při 2-8 C° ve zvlhčovací komůrce.
3. Použijte stříčku, nebo pipetu na promytí. Zabraňte cross-kontaminaci mezi vzorky.

LITERATURA

1. Melnicoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. In: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Lipton R and LaPorte RE. Epidemiology of islet cell antibodies. Epidemiologic Reviews 1989; 11:182-203.
3. Hagopian WA and Lernmark A. Islet Cell Autoantibodies. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu 6.1.2020.

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