

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

Kód 44826	12x4 testov	Kód 44827	12x8 testov
Skladovať pri 2 - 8°C			
Reagencie na kvalitatívne stanovenie autoimunitných protilátok. Výhradne na in vitro diagnostiku v klinických laboratóriách.			

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

Nepriama imunofluorescencia Myšia pečeň/obličky/žalúdok

PRINCÍP METÓDY

Sérum obsahujúce autoprotilátky proti jadierku (ANA), mitochondriám (AMA), hladkej svalovine (ASMA), gastrickým parietálnym bunkám (APCA), pečeňovým-obličkovým mikrozómom (LKM), retikulínu a ďalším sa viažu na príslušné antigény prítomné v preparáte, ktorý obsahuje myšiu pečeň, obličky a žalúdok. Na detekciu komplexu antigén-proti látka je použité sérum s anti-human imunoglobulínom značeným fluoresceínom. Vyhodnotenie sa vykonáva fluorescenčným mikroskopom¹.

Ludské 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 zaoberajte sa kontrolami ako s potenciónálne infekčným materiálom.

PRÍPRAVA REAGENCIÍ

PBS: Reagenciu B nariďte destilovanou vodou v pomere 1/10. Stabilná 1 mesiac pri 2-8 °C, ak boli pri skladovaní dodržané odporúčané teploty, reagentia bola dobre uzatvorená a nedošlo ku kontaminácii v priebehu jej používania. Ostatné činidlá sú pripravené k priamemu použitiu.

OBSAH

	KÓD 44826	KÓD 44827
A. Sklíčka	12 x 4 jamiek	12 x 8 jamiek

A. Sklíčka: Rezy myšej pečene, obličiek a žalúdka (ML/MK/MS) v každej jamke.

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.

Príznačky zhoršenia kvality :

- Kvapalná reagentia : Prítomnosť zrazeniny, zákalu
- Mikrotitračné doštičky : natrhnutie sáčku, makroskopické defekty na bunčných kultúrach, ako je poškrabanie dna jamiek, odlúpnutie.

POMOCNÉ REAGENTY

Pre kódy 44826 a 44827 je potrebné objednať tieto reagenty:

- B. PBS (10x)** (kód 44592): 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.
- D. FITC/Evans (R)** (kód 44590): Kozí anti-human IgG konjugovaný s fluoresceín isotiokyanátom a adsorbovaný s krysím sérom, Evansova modrá 0,01 g/L, azid sodný 0,95 g/l.
- E. Montovacie médium** (kód 44694): Mowiol 12%, glycerol 30%, Tris 20 mmol/L, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. ANA-Ho Pozitívna kontrola** (kód 44502): Ľudské sérum obsahujúce anti-nukleárne protilátky (ANA) homogénneho zobrazenia, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. AMA Pozitívna kontrola** (kód 44512): Ľudské sérum obsahujúce protilátky proti mitochondriám (AMA) , azid sodný 0,95 g/L.
- C+. ASMA Pozitívna kontrola** (kód 44522): Ľudské sérum obsahujúce protilátky proti hladkej svalovine, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. APCA Pozitívna kontrola** (kód 44532): Ľudské sérum obsahujúce protilátky proti parietálnym bunkám, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. LKM Pozitívna kontrola** (kód 44766): Ľudské sérum obsahujúce protilátky proti pečeňovým - obličkovým mitochondriám, azid sodný 0,95 g/L.
- C-. Negatívna kontrola** (kód 44696): Ľudské sérum, azid sodný 0,95 g/L.

PRÍDAVNÉ ZARIADENIA

- Zvlhčovacia komôrka
- Premývacia nádoba
- Krycie sklíčka 24 x 60 mm
- Fluorescenčný mikroskop s excitačným filtrom 495 nm a 525nm emisným filtrom na FITC vizualizáciu.

VZORKY

Sérum alebo plazma odobraná štandardným postupom. Stabilita 1 týždeň pri 2-8°C. Sérum zriedte 1/20 v PBS (Vid'. príprava reagentií). K titracii pozitívnych vzoriek riedte dvojkovým radom v PBS, začnite riedením 1/20.

PRACOVNÝ POSTUP

1. Vytemperujte reagentia a vzorky na izbovú teplotu.
2. Kvapnite 1 kvapku (50 µL) nariadenej vzorky, alebo kontroly do každej jamky s tkanivovým rezom. Uistite sa, že je rez kompletne pokrytý. (Poznámka 1).
3. Sklíčka inkubujte vo zvlhčovacej komôrke 30 minút pri izbovej teplote (15-30°C).
4. Vysušte sklíčko opatrným naklonením a poklepávaním o filtračný papier. Zabráňte skříženej kontaminácii medzi vzorkami.
5. Opláchnite krátko v ľahkom prúde PBS (vid'. príprava reagentie) (Pozn. 2).
6. Sklíčka dôkladne premývajte 5 minút v nádobe obsahujúcej PBS. Potom PBS vymeňte a premývanie zopakujte.
7. Sklíčko opatrne osušte špeciálnym odsávacím papierom. Jamky nesušte, musia zostať vlhké v priebehu celej procedúry.
8. Do každej jamky pridajte 1 kvapku reagentie D. Sklíčka inkubujte vo zvlhčovacej komôrke 30 minút pri izbovej teplote (15-30°C).
9. Premývajte podľa bodu 6 a usušte podľa bodu 7.
10. Pridajte do každej jamky niekoľko kvapiek reagentie E a opatrne prikryte krycím sklíčkom tak, aby nevznikli vzduchové bubliny.

ODČÍTANIE

Sklíčka vyhodnocujte fluorescenčným mikroskopom (zväčšenie 250-400x). Pre lepšie výsledky sklíčka vyhodnocujte okamžite. Na odčítanie zvolte vnútornú časť tkanivového rezu. Intenzita fluorescencie na okrajoch nie je charakteristická. Ak nájdete špecifický fluorescenčný obraz, ktorý je popísaný nižšie, pri odporúčanom riedení vzorky, je možné hovoriť o pozitívnom výsledku.

ANA-homogénny: Homogénny, rovnomerná fluorescencia vo všetkých častiach jadra buniek v interfáze.

AMA: Granulárna fluorescencia mitochondrií v cytoplazme tubulárnych buniek obličiek.

ASMA: Fluorescencia svalovej mukózy, svalových vrstiev ciev a interglandulárnych vlákien myšieho žalúdka.

APCA: Retikulárne vnútrobunkové sfarbenie parietálnych buniek myšej žalúdočnej sliznice.

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

Kód 44826	12x4 testov	Kód 44827	12x8 testov
Skladovať pri 2 - 8°C			
<p style="margin: 0;">AUTOPROTILÁTKY-MsL / MsK / MsS (AA-MsL / MsK / MsS) Nepriama imunofluorescencia Myšia pečeň/obličky/žalúdok</p>			
<p style="margin: 0;">Reagencie na kvalitatívne stanovenie autoimunitných protilátok. Výhradne na in vitro diagnostiku v klinických laboratóriách.</p>			

LKM: Typ I. Silné zafarbenie cytoplazmy hepatocytov v pečeni a cytoplazmy v proximálnych tubuloch v obličkách. Negatívne distálne tubuly.

Pozitívne séra môžu byť titrované. Titer séra je definovaný ako najvyššie riedenie vykazujúce pozitívny výsledok. Ak nie je pozorovaná žiadna typická fluorescencia, výsledok je pre tieto protilátky negatívny.

KONTROLA KVALITY

Pozitívna kontrola (C+) a Negatívna kontrola (C-) by mala byť testovaná spoločne so vzorkou pacienta, aby sa verifikovala pravdivosť skúšky.

Pozitívna kontrola (C+) by mala vykazovať vyššie popísaný 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, ak kontroly nie sú v tolerančnom rozpätí.

CHARAKTERISTIKA TESTU

FITC/Evans(R) je kalibrovaný oproti WHO medzinárodnému štandardu pre FITC značený ovčí anti-human imunoglobulín. Špecifita ANA-Ho Pozitívnej kontroly bola overená oproti AF/CDC1 referenčnému séru z Centra pre kontroly chorôb /Arthritis Foundation.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

ANA: Citlivosť stanovení antinukleárných protilátok je vyššia ako 95% pri ochorení SLE, aj keď špecifita je dosť nízka².

AMA: Prítomnosť mitochondriálnych protilátok je spojená s primárnou biliárnou cirhózou u viacej ako 95% pacientov^{3,4}.

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

APCA: Protilátky proti žalúdočným parietálnym bunkám nachádzame u 90% pacientov s pernicióznou anémiou, ktorá je obvykle spojená s ďalšími tkanivovo špecifickými autoimunitnými ochoreniami⁷.

LKM: Protilátky proti LKM typu I sú markerom pre autoimunitnú hepatitídu typu II⁸.

Klinická diagnóza by nemala byť uzavrená iba na základe výsledkov jedného testu, ale mali by byť prepojené všetky klinické a laboratórne údaje.

POZNÁMKA

1. Nedotýkajte sa tkanivových rezov v jamkách v priebehu skúšky.
2. Na premytie použite stričku, alebo pipetu. Zabráňte cross-kontaminácii.

LITERATÚRA

1. Melnickoff 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

UPOZORNENIE

Slovenský preklad k 3.9.2019.

Vzhľadom k novej inovácii výrobku 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., 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 prípade mimoriadnych udalostí:

ČR : Toxikologické informačné stredisko (TIS), klinika pracovného 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