

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

Kód 44826	12x4 testů	Kód 44827	12x8 testů	<b>AUTOPROTILÁTKY-MsL / MsK / MsS (AA-MsL / MsK / MsS)</b> <b>Nepřímá imunofluorescence</b> <b>Myší játra/ledviny/žaludek</b>
Skladovat při 2 - 8°C				
Reagenty pro kvalitativní stanovení autoimunitních protilátek. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.				

## PRINCIP METODY

Sérum obsahující autoprotiilátky proti jádru (ANA), mitochondriím (AMA), hladké svalovině (ASMA), gastrickým parietálním buňkám (APCA), jaterním-ledvinovým mikrozomům (LKM), retikulinu a dalším se vážou na odpovídající antigeny přítomné v preparátu obsahujícím myší játra, ledviny a žaludek. K detekci komplexu antigen-protilátka je použito sérum s anti-human imunoglobulinem značeným fluoresceinem. Vyhodnocení se provádí fluorescenčním mikroskopem<sup>1</sup>.

## OBSAH

	KÓD 44826	KÓD 44827
<b>A. Sklíčka</b>	<b>12 x 4 jamek</b>	<b>12 x 8 jamek</b>

**A. Sklíčka:** Řezy myších jater, ledvin a žaludku (ML/MK/MS) v každé jamce.

## SKLADOVÁNÍ

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

### Známky zhoršení kvality:

- Kapalně komponenty: Přítomnost částic, zákal
- Sklíčka: natržený sáček, makroskopické defekty na buněčných kulturách, jako je poškrábání nebo sloupnutí.

## POMOCNÉ REAGENTY

Pro kódy 44826 a 44827 je třeba objednat následující 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 fluorescein isothiokyanátem a adsorbovaný s krysím sérem, Evansova modř 0,01 g/L, azid sodný 0,95 g/l.
- E. Montovací medium** (kód 44694): Mowiol 12%, glycerol 30%, Tris 20 mmol/L, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. ANA-Ho Pozitivní kontrola** (kód 44502): Lidské sérum obsahující anti-nukleární protilátky (ANA) homogenního zobrazení, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. AMA Pozitivní kontrola** (kód 44512): Lidské sérum obsahující protilátky proti mitochondriím (AMA), azid sodný 0,95 g/L.
- C+. ASMA Pozitivní kontrola** (kód 44522): Lidské sérum obsahující protilátky proti hladké svalovině, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. APCA Pozitivní kontrola** (kód 44532): Lidské sérum obsahující protilátky proti parietálním buňkám, azid sodný 0,95 g/L.
- C+. LKM Pozitivní kontrola** (kód 44766): Lidské sérum obsahující protilátky proti jaterním-ledvinovým mitochondriím, azid sodný 0,95 g/L.
- C-. Negativní kontrola** (kód 44696): Lidské sérum, azid sodný 0,95 g/L.

*Lidská séra použitá pro výrobu 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 kontrolou jako s potenciálně infekčním materiálem.*

## PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

**PBS:** Naředte reagent B 1/10 destilovanou vodou. Stabilita 1 týden při 2-8°C Ostatní reagenty jsou ready to use.

## PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- Zvlhčovací komůrka
- Promývací nádoba
- Krycí sklíčka 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.

Stabilita po dobu 1 týdne při 2-8°C.

Sérum zředte 1/20 v PBS (Viz. příprava reagentu).

K titraci pozitivních vzorků ředte dvojkovou řadou v PBS, přičemž začnete ředěním 1/20.

## 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 řežem. Ujistěte se, že je řež kompletně pokrytý. (Poznámka 1).
3. Inkubujte sklíčka 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
4. Vysušte sklíčko opatrným nakloněním a poklepáváním o filtrační papír. Zabraňte cross-kontaminaci mezi vzorky.
5. Opláchněte krátce v lehkém proudu PBS (viz. příprava reagentu) (Pozn. 2).
6. Sklíčka důkladně promyjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.
7. Opatrně sklíčko osušte s použitím speciálního odsávacího papíru. Jamky nevysušujte, musí zůstat vlhké 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 fluorescenčním mikroskopem (zvětšení 250-400x). Pro lepší výsledky sklíčka vyhodnocujte okamžitě. Pro odečet zvolte vnitřní část tkáňového řezu. Intenzita fluorescence v okrajích není charakteristická. Jestliže najdete specifický fluorescenční obraz, který je níže popsán, při doporučeném ředění vzorku, lze mluvit o pozitivním výsledku.

**ANA-homogenní:** Homogenní, rovnoměrná fluorescence ve všech částech jádra buněk v interfázi.

**AMA:** Granulární fluorescence mitochondrií v cytoplazmě tubulárních buněk ledvin.

**ASMA:** Fluorescence svalové mukózy, svalových vrstev cév a interglandulárních vláken myšího žaludku.

**APCA:** Retikulární nitrobuňkové zbarvení parietálních buněk myší žaludeční sliznice.

**LKM:** Typ I. Silné zbarvení cytoplazmy hepatocytů v játrech a cytoplazmy v proximálních tubulech v ledvinách. Negativní distální tubuly.

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

Kód 44826	12x4 testů	Kód 44827	12x8 testů	<b>AUTOPROTILÁTKY-MsL / MsK / MsS (AA-MsL / MsK / MsS)</b> Nepřímá imunofluorescence Myši játra/ledviny/žaludek
Skladovat při 2 - 8°C				
Reagenty pro kvalitativní stanovení autoimunitních protilátek. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.				

Pozitivní séra lze titrovat. Titr séra je definován jako nejvyšší zředění dávající pozitivní výsledek. Není-li pozorována žádná typická fluorescence, výsledek je negativní pro tyto protilátky.

### KONTROLA KVALITY

Pozitivní kontrola (C+) a Negativní kontrola (C-) by měla být testována společně se vzorkem pacienta, aby se verifikovala pravdivost zkoušky.

Pozitivní kontrola (C+) by měla vykazovat výše popsaný specifický obraz.

Negativní kontrola (C-) by neměla dávat žádný specifický obraz.

Každá laboratoř by si měla stanovit svoji vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, když kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

### CHARAKTERISTIKA TESTU

FITC/Evans(R) je kalibrován proti WHO mezinárodnímu standardu pro FITC značený ovčí anti-human imunoglobulin.

Specifita ANA-Ho Pozitivní kontroly byla ověřena proti AF/CDC1 referenčnímu séru z Centra pro kontroly onemocnění/Arthritis Foundation.

### DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

**ANA:** Citlivost stanovení antinukleárních protilátek je vyšší než 95% při onemocnění SLE, i když specifita je docela nízká<sup>2</sup>.

**AMA:** Přítomnost mitochondriálních protilátek je spojená s primární biliární cirhózou u více než 95% pacientů<sup>3,4</sup>.

**ASMA:** Protilátky proti hladké svalovině se nachází v séru 52-85% pacientů s autoimunitní aktivní chronickou hepatitidou a u 22% pacientů s primární biliární cirhózou<sup>5,6</sup>.

**APCA:** Protilátky proti žaludečním parietálním buňkám nacházejí u 90% pacientů s perniciózní anémií, jež je obvykle spojena s dalšími tkáňově specifickými autoimunitními onemocněními<sup>7</sup>.

**LKM:** Protilátky proti LKM typu I jsou markerem pro autoimunitní hepatitidu typu II<sup>8</sup>.

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. Použijte stříčku, nebo pipetu na promytí. Zabraňte cross-kontaminaci.

### LITERATURA

1. Melnicoff 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. Homborg 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

### UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 22.9.2016.

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-sa.com](http://www.biosystems-sa.com).

Český návod je k dispozici na: [www.jktrading.cz](http://www.jktrading.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