



CS Protilátky proti cytoplasmě neutrofilů (Etanolem fixované)

REF A060L

IVD

Rx Only



URČENO K POUŽITÍ

Imunofluorescenční test SCIMEDX (IFA) je určen pro in vitro diagnostické stanovení protilátek proti cytoplasmě neutrofilů (ANCA) v lidském séru s využitím lidských neutrofilů fixovaných ethanolem jako substrátu. Test je určen jako pomocný nástroj při diagnostice granulomatózy s polyangiitidou (GPA), idiopatické srpkovité glomerulonefritidy, mikroskopické polyarteritidy a plicně-renálního syndromu.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

V roce 1939 popsal Friedrich Wegener onemocnění zvané „rhinogenní granulomatóza“. V raném stadiu onemocnění se nacházejí granulomy, které se podobně jako revmatické uzlíky vyvíjejí nezávisle na cévách v pojivové tkáni. Během generalizovaného stadia se obvykle granulomy nacházejí v těsné blízkosti cév v různých oblastech těla – někdy jen v jedné, jindy ve všech orgánech. Systémová vaskulitida se objevuje později. Onemocnění pojivové tkáně jsou spojena s autoprotiálkami proti různým neorgánově specifickým antigenům, zejména proti jaderným antigenům. ¹ Autoprotiálky proti neutrofilům jsou známy již dlouhou dobu. Již v roce 1964 byl popsán granulocytově specifický antinukleární faktor. ² Použití techniky fixace ethanolem pro detekci granulocytově specifických antinukleárních protilátek (GS-ANA) je dnes standardem. Cytoplazmatické barvení granulocytů bylo poprvé publikováno v roce 1982 ve zprávě o australských pacientech se segmentální nekrotizující glomerulonefritidou. ³ Byli popsáni další čtyři pacienti s vaskulitidou a glomerulonefritidou. ⁴ V roce 1985 van der Woude ⁵ ukázal, že autoprotiálky proti cytoplasmě neutrofilů (ANCA) se vyskytují u Wegenerovy granulomatózy. Výsledkem bylo výrazné zvýšení zájmu o tyto protilátky. ⁶ Tyto protilátky, nyní označované jako ANCA, se ukázaly jako užitečné pro diagnostiku onemocnění při systémových vaskulitidách.

V imunofluorescenčním testu na protilátky proti cytoplasmě neutrofilů (ANCA) byly rozpoznány vzory barvení, které se liší od granulárního cytoplazmatického vzoru vytvářeného protilátkami proti 29 kDa serinové proteáze; zejména byl pozorován perinukleární vzor (P-ANCA). Tento vzor je způsoben protilátkami proti dvěma dalším lysozomálním enzymům myeloidního původu – myeloperoxidáze (MPO) a lidské leukocytární elastáze. Protilátky typu P-ANCA byly identifikovány Falkem a Jennetteovou ^{7,8} u pacientů s idiopatickou nebo s vaskulitidou spojenou srpkovitou glomerulonefritidou. Přítomnost protilátek typu P-ANCA nebo C-ANCA se ukázala být vysoce specifická a senzitivní pro tuto skupinu onemocnění a je užitečná při klinickém hodnocení pacientů s podezřením na vaskulitidu. ⁹⁻¹² Detekce ANCA protilátek pomocí imunofluorescenční analýzy (IFA) se osvědčila jako užitečný nástroj při stanovení diagnózy, a do určité míry také při odhadu prognózy a odpovědi na léčbu. Doporučuje se další identifikace a potvrzení pomocí enzymového imunotestu (ELISA) jak pro MPO, tak pro PR3 ¹³. Pro co nejlepší hodnocení stavu pacienta se doporučuje současné testování na protilátky proti MPO a PR3. ⁶

PRINCIP FUNGOVÁNÍ TESTU

Naředěná patientská séra se inkubují ve vyznačených jamkách na podložním sklíčku, kde se přítomné protilátky proti ANCA vážou na lidské granulocyty fixované ethanolem na sklíčku. Nepřipojené (nevázané) protilátky jsou následně odplaveny promytím a probíhá druhá inkubace se sekundární protilátkou – anti-lidským IgG konjugovaným s fluorescein-isotiokyanátem (FITC). Nepřipojený konjugát se opět odplaví promytím a výsledný vzor navázaného konjugátu se následně vizuálně hodnotí pomocí fluorescenčního mikroskopu.

REAGENCIE

Poskytnutý materiál :

Každá sada obsahuje následující komponenty v dostatečném množství pro provedení počtu testů uvedeného na obalu.

SLD	Podložní sklíčka s ANCA substrátem: Deset sklíček s 10 jamkami, včetně absorpčního papíru a sáčku s vysoušečem.
CONJ	Konjugát: Koza proti lidskému IgG značený FITC. Obsahuje fosfátový pufr s BSA a kontrastní barvivo. Dvě jantarové lahvičky po 3 ml. Připraveno k použití.
CTRL +	Pozitivní kontrola c-ANCA: Obsahuje lidskou krevní plazmu pozitivní na c-ANCA spolu s konzervačními látkami. Jedna mikrozkrumavka s červeným víčkem. Objem 0.5 ml, připraveno k použití.

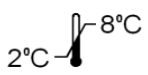
CTRL -	Negativní kontrola: Obsahuje lidskou krevní plazmu negativní na ANCA spolu s konzervačními látkami. Jedna mikrozkušavka se zeleným víčkem. Objem 0.5 ml, připraveno k použití.
BUF PBS	Fosfátový pufovaný roztok (PBS): pH 7.2 ± 0.2. Obsah každého balíčku s pufrem vysypte do jednoho litru destilované nebo deionizované vody. Míchejte, dokud se všechny soli úplně nerozpustí. Dva balíčky, dostačující k přípravě 2 litrů.
MNTMED	Montážní médium (pufovaný glycerol): dvě lahvičky po 3 ml, s bílým uzávěrem a kapátkem. Připraveno k použití.
COVGLS	Podložní sklíčka. Balení po dvanácti kusech, rozměry 24 x 60 mm, tloušťka č. 1.

POZNÁMKA: Konjugát a kontroly obsahují jako konzervační látky kombinaci Proclínu (0.05 % v/v) a azidu sodného (<0.1 % w/v).

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

1. Stojan na zkumavky nebo mikrotitrační systém
2. Mikropipeta s rozsahem 2–20 µl
3. Ocejchované skleněné pipety
4. Odměrný válec o objemu 1 l
5. Barvicí nádoba
6. Vlhká komora
7. Čisté nádoby na ředění pufry
8. Destilovaná nebo deionizovaná voda
9. Fluorescenční mikroskop
10. Papírové utěrky bez vláken
11. Časovač (rozsah do 60 minut)

PODMÍNKY SKLADOVÁNÍ

	Neotevřená souprava.
	Montážní médium, konjugát, sklíčka, sklíčka*, pozitivní a negativní kontroly.
	Rehydratovaný PBS (stabilní po dobu 30 dnů).
*Po otevření musí být mikroskopické sklíčka použita tentýž den. Ostatní připravené reagenty, kromě PBS, lze používat do uvedeného data expirace.	

UPOZORNĚNÍ

Varování:

1. Všechny krevní produkty by měly být považovány za potenciálně infekční. Lidské materiály, z nichž byl tento produkt odvozen, byly testovány podle aktuálně požadovaných testů FDA a byly shledány nereaktivními na povrchový antigen viru hepatitidy B (HBsAg) a protilátky proti viru HIV. Neexistuje však žádná známá testovací metoda, která by mohla s úplnou jistotou vyloučit možnost přenosu HIV, hepatitidy nebo jiných potenciálně infekčních agens z lidské krve. Proto by měly být tyto látky a všechny patientské vzorky zpracovávány na úrovni biologického zabezpečení 2, jak doporučuje příručka CDC/NIH „Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories“, 1984 nebo její nejnovější vydání.
2. Pouze pro diagnostiku in vitro.
3. Nepoužívejte reagentie po uplynutí doby použitelnosti.
4. Manipulujte se skly pouze za okraje, protože tlak na jamky s antigenem může poškodit antigen.
5. Všechny reagentie musí mít před testováním pokojovou teplotu (20–25 °C). Teplota MÁ vliv na výsledky testu.
6. Jakmile testování začne, nenechte antigen v jamkách vyschnout. Může to vést k falešně negativním výsledkům nebo artefaktům.
7. Používejte pouze destilovanou nebo deionizovanou vodu a čisté skleněné nádoby.
8. Pro každý vzorek, kontrolu a reagens používejte samostatné špičky pipet, abyste předešli křížové kontaminaci.
9. ANCA negativní a pozitivní kontroly musí být součástí každého testu.
10. Není zaručeno, že jsou reagentie zcela prosté mikrobiální nebo plísňové kontaminace.
11. Inkubační časy a teploty jiné než uvedené mohou vést k chybným výsledkům.
12. Používejte samostatné špičky pipet pro každý vzorek a reagens, abyste předešli křížové kontaminaci.
13. Reagentie je třeba zkontrolovat na známky bakteriální nebo plísňové kontaminace.
14. Podložní sklo se substrátem nepoužívejte opakovaně.

ODBĚR SÉRA

Vzorek plné krve by měl být odebrán kvalifikovaným personálem pomocí schválených aseptických technik venepunkce. Sérum obsahující viditelné částice je třeba získat a/nebo vyčistit centrifugací. Vzorky lze skladovat při teplotě 2–8 °C, pokud bude testování provedeno do 5 dnů. Pokud je skladování delší, měly by být zmrazeny při –20 °C nebo nižší teplotě. Nepoužívejte mrazák bez námrazy, který by mohl způsobit opakované cykly zmrazování a rozmrazování, jež mohou denaturovat IgG protilátky a vést k nesprávným výsledkům. Nepoužívejte hyperlipemická, hemolytická, tepelně ošetřená nebo kontaminovaná séra.

PRÍPRAVA REAGENTOV A VZORIEK

1. Před použitím nechte **všechny** reagenty dosáhnout pokojové teploty (20–25 °C). Vyjměte požadovaný počet podložních skel pro denní testování. Podložní sklo vyjměte z fóliového obalu roztržením na zářezu. Opatrně vyjměte sklo z obalu a vyhněte se dotyku s oblastmi jamek. Sklo je připraveno k použití.
2. Připravte PBS pufr tak, že obsah balení nalijete do nádoby a doplníte deionizovanou nebo destilovanou vodou do konečného objemu 1.0 l. Důkladně promíchejte. 1X roztok skladujte při 2–8 °C.
3. Pozitivní a negativní kontroly jsou připravené k okamžitému použití. **Dále je nerozdívejte.**
4. FITC konjugát je připravený k použití, kapalný. Konjugát je stabilní při 2–8 °C do uvedeného data expirace.
5. Séra pacientů: **Screening:** Ředěte každé sérum pacienta 1:20 v PBS. Připravte ředění (10 µl + 0.190 ml) v zkumavkách. **Titrace:** Připravte dvojnásobná ředění séra začínající od 1:20 (např. 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 atd.). Všechny ředění promíchejte na nízkých otáčkách ve vortexu.
6. Přiřaďte každé jamce na podložním skle odpovídající vzorek.

POSTUP TESTU

1. Nechte podložní sklo dosáhnout pokojové teploty (20–25 °C) před otevřením obalu. Roztrhněte obal na zářezu. Opakovaně opatrně vyjměte sklo a nedotýkejte se oblastí s antigenním substrátem. Sklo je nyní připraveno k použití.
2. Naneste 30 µl séra do jamek s antigenem.
3. Umístěte sklo s pacientovým sérem a kontrolami do vlhkostní komory na 35 ± 5 minut při pokojové teplotě (20–25 °C).
4. Vyjměte sklo z vlhkostní komory. Pomocí mycí lahvičky jemně opláchněte zbytky séra ze skla, přičemž se vyhněte přímému směřování proudu do jamek.
5. Propláchněte ve fosfátovém pufru (PBS) nebo proveďte dvě samostatné pětiminutové výměny pufru.
6. Položte savý papír na laboratorní stůl savou stranou nahoru. Vyjměte sklo z PBS a otočte ho tak, aby substrát směřoval k savé straně papíru. Zarovnejte jamky se zásuvkami v papíru. Položte sklo na papír. Nedovolte, aby substrát uschl.
7. Otřete zadní stranu skla suchým, bezprašným papírovým ubrouskem. Při otírání vyvíjejte dostatečný tlak, aby se absorboval pufr. Nedovolte, aby substrát uschl.
8. Naneste 30 µl konjugátu do každé jamky s antigenem. Opakujte kroky 3 až 7.
9. Na sklo naneste 4–5 kapek montážního média.
10. Přiložte krycí sklíčko. Prohlédněte sklo pod fluorescenčním mikroskopem.

Poznámka: Pro zachování fluorescence uchovávejte připravené sklo ve vlhkostní komoře v tmavé chladničce. Výsledky přečtěte a zaznamenejte.

KONTROLA KVALITY

1. Se soupravou je dodáváno pozitivní a negativní kontrolní sérum. Kontroly ověřují správnost testu, integritu testu a spolehlivost operátora. Dobrá laboratorní praxe vyžaduje spuštění pozitivní a negativní kontroly při každém použití soupravy.
2. Negativní kontrola by měla vykazovat malou nebo žádnou fluorescenci. Pokud tato kontrola vykazuje jasnou fluorescenci, může být problém v kontrole, antigenním substrátu, konjugátu nebo technice provedení.
3. Pozitivní kontrola by měla vykazovat jasnou fluorescenci v rozmezí 3+ až 4+. Pokud tato kontrola vykazuje malou nebo žádnou fluorescenci, může být problém v kontrole, antigenu, konjugátu nebo technice. Poznámka: Tato kontrola může být použita při titru 1+, jak je uvedeno na etiketě.
4. Kromě pozitivních a negativních kontrol by měla být spuštěna i kontrola s PBS, aby se ověřilo, že konjugát nevyvolává nespecifické barvení substrátu. Pokud antigen vykazuje jasnou fluorescenci v PBS kontrole, test zopakujte s čerstvým konjugátem. Pokud antigen stále fluoreskuje, může být problém v konjugátu nebo antigenu.
5. Při titraci vzorků pacientů by měla být spuštěna titrovatelná pozitivní kontrola. Může se použít interní kontrola s známým titrem nebo pozitivní kontrola dodaná se soupravou. Titr 1+ pozitivní kontroly (C-ANCA) je uveden v Certifikátu analýzy produktu. Kontrola by měla titrovat přibližně +/- o jeden dvou-násobný řetězový ředění v testu. Pro kontrolu kvality vzoru P-ANCA by měla být spuštěna také kontrola P-ANCA se známým titrem. P-ANCA kontrola není součástí této soupravy.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Pozitivní = C-ANCA je identifikováno jako pozitivní výsledek, pokud je přítomno intenzivní pozitivní granulární barvení **cytoplazmy**, které zasahuje až k okrajům lidského granulocytového substrátu, s fluorescencí 1+ nebo vyšší, přičemž jaderné barvení chybí.

P-ANCA vykazuje intenzivní pozitivní **perinukleární** barvení vícejaderného jádra s neostře vymezenou hranicí buňky. Fluorescence 1+ nebo vyšší se považuje za pozitivní výsledek.

Rozlišení mezi C-ANCA, P-ANCA a možnou křížovou reaktivitou s GS-ANA (granulární specifické ANA) by mělo být provedeno na buňkách HEP-2 a na formalínem fixovaných ANCA preparátech.

Negativní = Sérum je považováno za negativní na ANCA, pokud chybí nebo je minimální barvení cytoplazmy, nebo pokud je přítomna nízká úroveň uniformního (ne granulárního) barvení cytoplazmy. Fluorescence je nižší než 1+ při ředění 1:20. Vícejaderné jádro by mělo být rovněž negativní.

OMEZENÍ TESTU

1. Titry protilátek získané z jednotlivých vzorků nemusí nutně korelovat se závažností onemocnění a neměly by být takto interpretovány. Protilátky od různých pacientů mohou mít odlišnou aviditu. Párová séra testovaná současně za stejných podmínek poskytnou lepší indikaci průběhu onemocnění. Výsledek testu však není diagnostickým důkazem přítomnosti nebo nepřítomnosti vaskulitidy. Imunosupresivní léčba by neměla být zahájena na základě jediného pozitivního výsledku. Pro potvrzení by měl být použit ELISA test.
2. Výsledky získané tímto testem mají sloužit pouze jako pomoc při diagnóze. Každý lékař musí výsledky interpretovat s ohledem na anamnézu pacienta, fyzikální nálezy a další diagnostické postupy. Nízké pozitivní výsledky by měly být vyhodnoceny v kontextu klinických příznaků a výsledků testování na další autoimunitní onemocnění, jako je SLE, Goodpastureův syndrom apod. Doporučuje se potvrzení výsledků opakovaným odběrem a testováním pacienta.
3. Pozitivní výsledky získané tímto testem by měly být potvrzeny enzymovou imunoanalýzou (EIA), protože ANCA antigeny obsahují další specifické složky, jako jsou katepsin, laktoferrin a elastáza. Vzhledem k podobnosti sekvencí je možná určitá křížová reaktivita. Dále má malý počet pacientů se SLE, zejména se neurologickým postižením, protilátky proti myeloidní elastáze, katepsinu a laktoferrinu.^{14,15} U některých onemocnění (ulcerózní kolitida – UC a primární sklerotizující cholangitida – PSC) byl identifikován podobný ANCA vzor, který však nereaguje s PR3 nebo MPO v ELISA testu.^{16–18}
4. Optimální výsledky budou dosaženy pouze při přísném dodržování pokynů k testování.
5. Používejte čerstvé sérum nebo vzorky, které byly zmrazeny a rozmrazeny pouze jednou. Vzorky nesprávně skladované nebo vystavené opakovaným cyklům zmrazení a rozmrazení mohou vést k chybným výsledkům.
6. Pacienti by měli být testováni na ANA HEP-2 substrátu, aby se předešlo záměně. Granulocyt-specifické antinukleární protilátky (GS-ANA), také nazývané neutrofilové jaderné protilátky (ANNA), jsou specifickou třídou antinukleárních protilátek reagujících s jádry neutrofilů homogenním vzorem, ale nereagují s jinými substráty používanými pro detekci ANA (např. játra potkana nebo buňky HEP-2). Přesné ne-histonové antigeny GS-ANA zatím nebyly identifikovány.

Tato třída protilátek je spojována s aktivní revmatoidní artritidou (RA), zejména pokud je spojena s vaskulitidou a/nebo neutropenií, s výskytem až 75 %. U těchto pacientů nebyla zjištěna reaktivita proti myeloperoxidáze ani proteináze-3. Atypický P-ANCA vzor spojený se zánětlivým onemocněním střev (IBD) není zcela definován. Detekuje se u 59–84 % pacientů s ulcerózní kolitidou, 10–20 % pacientů s Crohnovou nemocí a také u 65–84 % pacientů s primární sklerotizující cholangitidou s nebo bez IBD.^{23,24} Tyto IBD-související P-ANCA nejsou spojeny s protilátkami proti PR3 nebo MPO. Atypické ANCA vzory jsou považovány za „podezřelé“ a doporučuje se další testování pomocí EIA. Testování sérových vzorků na reaktivitu s buňkami HEP-2 a formalínem fixovanými preparáty pomáhá rozlišit atypické vzory protilátek, jako jsou GS-ANA, elastáza nebo laktoferrin, od P-ANCA a potvrdit tak pozitivní výsledek.

OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Publikované klinické studie prokázaly, že méně než 1 % pacientů s podezřením na vaskulitidu a/nebo glomerulonefritidu vykazovalo pozitivní C-ANCA nebo P-ANCA vzor. Protilátky proti PR3 a MPO jsou vysoce senzitivní a specifické, a proto se doporučuje kombinace testování metodou IFA a EIA. Kombinované testování protilátek ANCA pomocí IFA a EIA poskytuje nejlepší specifitu a senzitivitu.

Přítomnost C-ANCA protilátek je spojena s různými typy vaskulitidních onemocnění, přičemž u klasické Wegenerovy granulomatózy dosahuje senzitivita více než 90 %. Klasická nebo rozšířená forma GPA je charakterizována granulomatózním zánětem dýchacích cest, nekrotizující srpkovitou glomerulonefritidou a systémovou vaskulitidou. U pacientů s mírnějším průběhem onemocnění, jako je pauci-imunitní nekrotizující glomerulonefritida, je protilátky možné detekovat přibližně ve 40–50 % případů. U pacientů s omezenou formou Wegenerovy granulomatózy bez postižení ledvin je míra detekce mezi 67–86 %.^{19–22}

Je třeba poznamenat, že ne všechna ANCA pozitivní séra reagují s antigeny PR3 nebo MPO. V závislosti na použitých metodách a antigenech se senzitivita testu pohybuje přibližně v rozmezí 70–100 %. Pozitivní ANCA séra mohou obsahovat i další protilátky, které nejsou přítomny v antigenu PR3 ani MPO.^{19–22} Publikované studie prokázaly vysoký výskyt P-ANCA protilátek u různých systémových vaskulitid a onemocnění typu glomerulonefritidy. Pozitivní výsledky ANCA testů u pacientů s jinými typy vaskulitid (např. mikroskopická polyarteritida, eozinofilní granulomatóza s polyangiitidou – eGPA a další formy polyangiitidy) obvykle vykazují P-ANCA vzor a bývají zpravidla způsobeny protilátkami proti MPO. Některé studie ukázaly až 92% pozitivitu anti-MPO protilátek u pacientů s potvrzenou systémovou vaskulitidou malých cév, polyarteritidou, primární glomerulonefritidou a rychle progredující glomerulonefritidou. Ve skupině pacientů se systémovou

nekrotizující vaskulitidou z okruhu polyarteritid mělo 50 % protilátky proti MPO. V jiné studii bylo zjištěno, že 50 ze 424 sér s perinukleárním fluorescenčním vzorem bylo pozitivních na MPO protilátky při testování metodou ELISA.^{10,11,17,18}

Na 1. mezinárodním workshopu o ANCA v roce 1988 bylo doporučeno, aby se séra při imunofluorescenčních testech testovala při ředění 1:20. Na základě tohoto doporučení byl tento IFA test navržen s použitím ředění séra 1:20. Pro potvrzení byly testovány vzorky od 100 zdravých dárců krve (muži a ženy ve věku 20–65 let) z východního pobřeží USA a ve všech případech byl výsledek při ředění 1:20 negativní. Následující tabulka ukazuje výskyt ANCA protilátek u různých známých onemocnění a v normálních sérech, jak byl zjištěn v rámci klinických studií provedených při hodnocení této IFA soupravy pro detekci ANCA protilátek:

Chorobný stav	Celkem testováno	Č. C-ANCA negativní	Č. C-ANCA Pozitivní	Č. P-ANCA Negativní	Č. P-ANCA pozitivní
GPA	44	6	38	39	5
ICGN	41	31	10	13	28
PAN	4	1	3	4	0
PRS	8	6	2	3	5
No DX	36	20	16	23	13
MPA	21	19	2	2	19
CGN	7	4	3	3	4
UC	24	20	4	14	10
SLE	17	16	1	14	3
Všechny ostatní autoimunitní onemocnění	30	28	2	25	5
Všechny ostatní vaskulické	12	8	4	8	4
Normálky	198	195	3	196	2

ICGN = Idiopatická podkovovitá glomerulonefritida; PAN = Polyarteritis nodosa; PRS = Plicně-ledvinný syndrom; No DX = Bez diagnózy; MPA = Mikroskopická polyarteritida; CGN = Podkovovitá glomerulonefritida; UC = Ulcerózní kolitida; SLE = Systémový lupus erythematoses.

Celková klinická senzitivita/specifická/shoda mezi výsledky SCIMEDX ANCA IFA a klinickou diagnózou idiopatické podkovovité glomerulonefritidy, plicně-ledvinného syndromu a mikroskopické polyarteritidy v této studii je následující.

Diagnostikovaný ICGN, MPA a PRS			
		+	-
SCIMEDX	+	50	51
P-ANCA	-	16	325

Senzitivita = 75.7 %

Specifická = 86.4 %

Shoda = 84.8 %

Celková klinická senzitivita/specifická/shoda mezi výsledky SCIMEDX ANCA IFA a klinickou diagnózou Wegenerovy granulomatózy v této studii je následující.

Diagnóza Wegenerovy choroby			
		+	-
SCIMEDX	+	38	52
C-ANCA	-	6	346

Senzitivita = 86.3 %

Specifická = 86.9 %

Shoda = 86.9 %

VÝKONOVÉ CHARAKTERISTIKY

Srovnání

Byla provedena studie s použitím 244 vzorků pacientů získaných z laboratoře specializující se na autoimunitní onemocnění a 198 vzorků od zdravých dárců krve. Tyto vzorky byly testovány pomocí SCIMEDX ANCA IFA soupravy, přičemž výsledky C-ANCA vzoru byly porovnány s ELISA soupravou na anti-PR3. Výsledky vykázaly 86.0% senzitivitu, 97.1% specificku a 94.8% shodu s metodou ELISA. Výsledky jsou shrnuty následovně:

Odkaz EIA (PR3)			
		+	-
SCIMEDX	+	80	10
ANCA IFA	-	13	339

Relativní senzitivita = 86.0 %

Relativní specifická = 97.1 %

Relativní shoda = 94.8 %

Tyto stejné vzorky byly testovány pomocí SCIMEDX ANCA IFA soupravy, přičemž výsledky vzoru P-ANCA byly interpretovány a porovnány s ELISA soupravou na anti-MPO. Výsledky vykazaly 98.7% senzitivitu, 93.1% specificku a 94.1% shodu s metodou ELISA. Výsledky jsou shrnuty následovně:

Odkaz EIA (MPO)			
		+	-
SCIMEDX	+	76	25
P-ANCA	-	1	340

Relative Sensitivity = 98.7%

Relative Specificity = 93.1%

Relative Agreement = 94.1%

Křížová Reaktivita

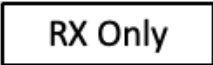
Byla provedena studie s použitím 50 vzorků charakterizovaných autoimunitními onemocněními, které byly získány z externí laboratoře. Vzorky byly analyzovány pomocí SCIMEDX ANCA IFA. Pouze u jednoho pacienta se na IFA objevil pozitivní C-ANCA vzor, přičemž u tohoto pacienta byla diagnostikována autoimunitní nemoc SLE. U ostatních známých pacientů se SLE nebyla na C-ANCA IFA pozorována pozitivní reakce. Povaha onemocnění souvisejícího se SLE může způsobovat různé anomální odpovědi protilátek, které nejsou přesně známy, a mohou vést k mírně pozitivnímu výsledku. Osm vzorků vykazovalo pozitivní P-ANCA vzor v IFA. Tři ze vzorků byly SLE, ale ostatní diagnózy byly smíšené.

Reprodukovatelnost

Byly provedeny studie k prokázání vnitro-testové, mezi-denní a mezi-šaržové reprodukovatelnosti testovací soupravy SCIMEDX ANCA IFA. Studie reprodukovatelnosti byly provedeny s použitím screeningového ředění 1:20 pro pět vzorků séra; tři pozitivní vzorky séra (jeden s vysokou, jeden se střední a jeden s nízkou hladinou) a dva negativní vzorky séra. Intenzita fluorescence byla interpretována na stupnici od 1+ do 4+. Vnitro-testová studie použila vzorky séra v šesti replikách na jamku. Těchto pět vzorků bylo testováno se třemi různými šaržemi souprav během pěti dní pro stanovení mezi-denní a mezi-šaržové reprodukovatelnosti. Negativní vzorky zůstaly ve všech jamkách během celého testovacího období negativní. Všechny hodnoty pro tři pozitivní vzorky séra vykazovaly konzistentní intenzitu fluorescence 1+2, 2+3 a 4+.

GLOSÁŘ SYMBOLŮ

Následující symboly mohly být použity na označení tohoto produktu.

Symbol	Popis	Symbol	Popis
	Výrobce		Chraňte před slunečním zářením
	<i>In vitro diagnostický lékařský prostředek</i>		Jediné použití jamky testu
	Katalogové číslo		Krycí sklíčko
	Dostatečné pro n testů		Preparát ANCA substrátu (lidské granulocyty)
	Šaržový kód		PBS pufr
	Použít do		Montážní médium
	Omezení skladovací teploty		Konjugát
	Pouze na lékařský předpis		Pozitivní kontrola
	Konzultovat do elektronického pokyny k použití		Negativní kontrola
	Skladujte ve vzpřímený poloze		Vyrobeno v USA

BIBLIOGRAFIE

1. Wegener, F., Histopatologická definice Wegenerovy granulomatózy. In: APMIS Suppl. 19, 98, s. 13–14, 1990.
2. Faber, V., Elling, P., Norup, G., aj., Antinukleární faktor specifický pro leukocyty, Lancet 2:344–345, 1964.
3. Davies, D.J., Moran, J.E., Niall, J.F., aj., Segmentální nekrotizující glomerulonefritida s antineutrofilními protilátkami: možná etiologie arbovirem, Br. Med. J., 285:606, 1982.
4. Hall, J.B., Wadham, BMCN, Wood, C.F., aj., Vaskulitida a glomerulonefritida: podskupina s antineutrofilními cytoplazmatickými protilátkami, Aust. NZ J. Med., 14:277–278, 1984.
5. Van der Woude, F.J., Rasmussen, N., Lobatto, S., aj., Autoprotilátky proti neutrofilům a monocytům: nástroj pro diagnostiku a marker aktivity onemocnění u Wegenerovy granulomatózy, Lancet, 2:425–429, 1985.
6. Weislander, J., Jak jsou detekovány antineutrofilní cytoplazmatické autoprotilátky?, Am. J. Kidney Diseases, XVIII, č. 2 (srpen), s. 154–158, 1991.
7. Falk, R.J., Jennette, C.J., Antineutrofilní cytoplazmatické autoprotilátky se specifitou pro myeloperoxidázu u pacientů se systémovou vaskulitidou a idiopatickou nekrotizující a srpkovitou glomerulonefritidou, N. Engl. J. Med., 318:1651–1657, 1988.
8. Falk, R.J., Hogan, S.L., Wilkman, A.S., aj., Protidátky specifické proti myeloperoxidáze (MPO-ANCA), Neth J Med, 36:121–125, 1990.
9. Daha, M.R., Falk, R.J., Anti-myeloperoxidázové protidátky a klinické souvislosti, Neth J Med, 1990, 36:152–153.
10. Cohen Tervaert, J.W., aj., Asociace autoprotilátek proti myeloperoxidáze s různými formami vaskulitid, Arthritis and Rheumatism, 33(8), s. 1264–1272, 1990.
11. Goldschmeding, R., aj., Různé imunologické specifity a asociace nemocí u c-ANCA a p-ANCA, Neth. J. of Med., 36:114–116, 1990.
12. Wiik, A., Současná klasifikace a definice autoprotilátek proti neutrofilním granulocytům, APMIS, Suppl. 19, 98:24–25, 1990.
13. Saxena, R., Weislander, J., Diferenciální diagnostika renopulmonálního syndromu pomocí ELISA, European Clinical Lab., duben, 1991.
14. Flesch, B.K., aj., Protidátky proti elastáze, katepsinu G a laktoferinu v sérech s c-ANCA nebo atypickým fluorescenčním obrazem (abstrakt), 3. mezinárodní workshop o ANCA, Washington, D.C., 8, 1990.
15. Lucena-Fernandes, M.F., aj., Atypická ANCA u revmatických onemocnění (abstrakt), 3. mezinárodní workshop o ANCA, Washington, D.C., 8, 1990.
16. Hardarson, S., aj., ANCA u zánětlivých střevních a hepatobiliárních onemocnění, Clin. Micro. and Immunol., 99(3):277–281, 1992.
17. Goeken, J.A., ANCA u střevních a jaterních onemocnění: nové důkazy pro autoimunitní etiologii?, Clinical Immunol. Newsletter, 13(9/10), 1993.
18. Bygren, P., Rasmussen, N., Isaksson, B., Weislander, J., ANCA, anti-GBM a anti-dsDNA protidátky u glomerulonefritidy, European J. of Clin. Investig., 22:783–792, 1992.
19. Gross, W.L., 5. mezinárodní workshop o ANCA, září 1993.
20. Kallenberg, C.G., aj., Amer. J. Medicine, 93:675–681, 1992.
21. Falk, R.J., aj., Amer. J. Kidney Dis., XVIII(2), srpen, s. 145–147, 1991.
22. Nolle, B., aj., Annals Intern. Med. III, s. 28–40, 1989.
23. Duerr, R.H., Targan, S.R., Landers, C.J., aj., ANCA: spojení mezi primární sklerotizující cholangitidou a ulcerózní kolitidou, Gastroenterology, 100:1385–1391, 1991.
24. Duerr, R.H., Targan, S.R., Landers, C.J., aj., ANCA u ulcerózní kolitidy: srovnání s jinými kolitidami/průjemovými onemocněními, Gastroenterology, 100:1590–1596, 1991.



ZEUS Scientific
200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA
Bezplatná linka (USA): 1-800-286-2111, volba 2
Mezinárodní: +1 908-526-3744
Fax: +1 908-526-2058
Webové stránky: www.zeusscientific.com
dIFine je registrovaná ochranná známka společnosti ZEUS Scientific

Pro zákaznický servis v USA kontaktujte ZEUS Scientific, volejte zdarma nebo pište na orders@zeusscientific.com.
Pro technickou podporu v USA kontaktujte ZEUS Scientific, volejte zdarma nebo pište na support@zeusscientific.com.
Pro zákaznický servis a technickou podporu mimo USA, prosím, kontaktujte svého místního distributora.

EC	REP
----	-----

Emergo Europe
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
Nizozemsko