



HISTOFLUOR[®] RODENT LKS-FLUORESCERANDE ANTIKROPPSTESTSYSTEM

För diagnostisk användning in vitro

För yrkesmässig användning

AVSEDD ANVÄNDNING: Detta är ett indirekt fluorescerande antikroppstest för kvalitativ och halvkvantitativ detektion av IgG-autoantikroppar i humant serum genom manuell fluorescensmikroskopi eller med Image Navigator[®] halvautomatiskt fluorescerande mikroskop. Detta testsystem ska användas som ett hjälpmedel vid detektion av antimitokondriella (AMA) autoantikroppar samt autoantikroppar mot parietalceller (APCA) och glattmuskler (ASMA) som är associerade med autoimmun hepatit typ 1, primär biliär cirros och perniciös anemi/autoimmun gastrit tillsammans med andra laboratorie-instrumentet och mjukvaran måste bekräftas av en utbildad operatör.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING AV TESTET

De autoantikroppar som finns i människor är riktade mot ett antal olika antigener. Många av dessa antigener är mycket konserverade, så att praktiskt taget identiska antigena epitoper hittas i djur- och människovävnad. Användningen av djurvävnad för att detektera dessa antikroppar är ett sedan länge använt laboratieförfarande. Många av de autoantikroppar som detekteras på djurvävnad är nära förknippade med specifika autoimmuna sjukdomar hos människor. Detektering och kvantifiering av specifika autoantikroppar möjliggör diagnos och övervakning av specifika autoimmuna sjukdomar (1,2).

TESTPRINCIP

Immuno Concepts HistoFluor[®] Rodent LKS Test System använder en indirekt fluorescerande antikroppsteknik som först beskrevs av Weller och Coons (3). Patientprov odlas med antigensubstrat (lever från gnagare/njure/mage) för att tillåta speciella bindningar av autoantikroppar till cellkomponenter. Om autoantikroppar förekommer bildas ett stabilt antigen/antikroppkomplex. Efter tvättning för att avlägsna icke-specifika och obundna antikroppar, inkuberas substratet med en antihuman antikropp som konjugeras till fluorescein. När resultaten är positiva bildas ett stabilt komplex i tre delar bestående av fluorescerande antikropp bunden till human autoantikropp, som binds till cellulärt antigen. Detta komplex kan visualiseras med hjälp av ett fluorescerande mikroskop. I positiva prover uppvisar cellerna en äppelgrön fluorescens med ett färgningsmönster som är karakteristiskt för den aktuella antigenfördelningen inom cellerna. Om provet är negativt för autoantikroppar uppvisar cellerna inte ett tydligt urskiljbart fluorescensmönster.

SYSTEMKOMPONENTER - MATERIAL SOM INGÅR

Användning: Alla komponenter levereras klara för användning utan behov av alikvotering eller rekonstitution (förutom PBS-bufferten som måste upplösas i avjoniserat eller destillerat vatten före användning).

Förvaring: Alla komponenter kan förvaras i kylskåp vid 2-10 °C. Efter rekonstitution skall PBS-bufferten förvaras i behållare med skruvlock vid 2-25 °C. Monteringsmedel kan förvaras i 2-25 °C.

Stabilitet: Alla komponenter förblir stabila i minst 12 månader från tillverkningsdatum. Använd inte någon komponent senare än dess förfallodatum.

REAKTIVA REAGENSER

Substratobjektglas [OBJEKTGLAS]: Tunna (cirka 4-5 mikrometer) delar av gnagare lever, njure, mage eller njure och mage. Vävnaderna har fixerats i en patentskyddad blandning av aceton, alkohol och annan organisk lösning för att bevara vävnadsproteiner i sina ursprungliga konfigurationer. Objektglas finns med fyra brunnar (mus, katalognummer 12004-02, råtta, katalognummer 12004-03) och med 8 brunnar (mus, katalognummer 12008-02, råtta, katalognummer 12008-03). Objektglas KS finns med fyra brunnar (mus, katalognummer 12004-04, råtta, katalognummer 12004-05) och med 8 brunnar (mus, katalognummer 12008-04, råtta, katalognummer 12008-05).

Antimitokondriell antikroppsspecifik (AMA) positiv kontroll [KONTROLL] +: Katalognr. 12021-02. Droppflaska som är redo för användning innehåller 1,0 ml positivt humant kontrollserum med IgG-antikropp som är specifik för mitokondriella antigener. Detta serum påvisar ett positivt antimitokondriellt färgningsmönster på gnagarvävnadssubstratet.

Negativt kontrollserum [KONTROLL] -: Katalognr. 12031. Droppflaska som är redo för användning innehåller 1,0 ml negativt humant kontrollserum. Denna kontroll kan påvisa svagt fluorescerande färgning, men den visar inget urskiljbart mönster.

Fluorescerande antikroppsreagens [CONJ|FITC]: Katalognr. 12009-02 (9,0 ml), 12075-02 (23 ml). Get anti-humant IgG (gamma) konjugerat med fluorescein isotiocyanat (FITC). Reagensen levereras redo för användning i precisionspipettflaskor med 9,0 ml för vart 10:e objektglas i fullständiga testsatser.

Valfritt positiv kontroll [KONTROLL] +:

Katalognr. 12022-02 (0,5 ml) - Antikroppar mot parietalceller (APCA). Droppflaska som är redo för användning och innehåller 0,5 ml positivt humant kontrollserum med IgG-antikropp som är specifik för antigener mot parietalcell. Detta serum visar ett positivt anti-parietalcellmönster på gnagarvävnadssubstratet.

Katalognr. 12023-02 (0,5 ml) - Antikroppar mot glatt muskulatur (ASMA). Droppflaska som är redo för användning och innehåller 0,5 ml positivt humant kontrollserum med IgG-antikropp som är specifik för antigener mot glatt muskulatur. Detta serum visar en positiv anti-glatt muskelfärgningsmönster på vävnadssubstratet från gnagare.

Valbara titrerbara kontrollserum [TC]:

Katalognr. 12261-02 (0,25 ml) - AMA. Flaska som är redo för användning och innehåller 0,25 ml antimikrobiellt positivt humant kontrollserum som ska behandlas som utspätt patientprov. Se flaskans etikett för titervärde.

Katalognr. 12262-02 (0,25 ml) - APCA. Flaska som är redo för användning och innehåller 0,25 ml positivt humant kontrollserum mot parietalceller som ska behandlas som utspätt patientprov. Se flaskans etikett för titervärde.

Katalognr. 12263-02 (0,25 ml) - ASMA. Flaska som är redo för användning och innehåller 0,25 ml positivt humant kontrollserum mot glattmuskler som ska behandlas som utspätt patientprov. Se flaskans etikett för titervärde.

ICKE-REAKTIVA KOMPONENTER

PBS-buffertpulver [PWDR|PBS]: Katalognr. 1011. Fosfatbuffrat saltlösningspulver (0,01 M, pH 7,4 ± 0,2). Varje påse innehåller tillräckligt med buffertpulver för att ge 1 liter. (En påse med buffertpulver levereras för vart femte objektglas i fullständiga testsatser.)

Framställning: Lös upp en påse med buffertpulver i 1 liter avjoniserat eller destillerat vatten, täck och förvara mellan 2 och 25 °C under upp till fyra veckor eller tills tecken på förorening eller andra synliga förändringar uppträder.

Halvpermanent monteringsmedel [SOLN|MM]: Katalognr. 1111. Bruksfärdig pipettampull innehållande 5,0 ml glycerolbaserat monteringsmedel.

Skyddsremсор **CVSLP**: Katalognr. 1042. Varje bunt innehåller tio (10) 24x64 mm skyddsremsa av glas nr 1.

YTTERLIGARE MATERIAL SOM KRÄVS - MEN INTE INGÅR

Volymetriska pipetter för pipettering av 30-40 µl volymer
Coplin-kärl eller färgningsskålar
Klämflaska eller Pasteur-pipetter
Serologiska pipetter
Enlitersbehållare (för PBS-buffert)
Avjoniserat eller destillerat vatten
Provrör för att framställa serumspädningar
Läskpapper eller pappershanddukar
Inkubationskammare
Engångshandskar
Laborietidur
Fluorescerande mikroskop med 495 nm matarfilter och 515 nm spärrfilter

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Allt material av humant ursprung som använts för denna produkt har testats och visat sig vara negativt (inte upprepat reaktivt) för antikroppar mot humant immunbristvirus-1 (HIV-1), humant immunbristvirus-2 (HIV-2), hepatit C-virus (HCV) och hepatit B ytantigen (HBsAg) med FDA-godkända metoder. Ingen testmetod kan emellertid helt garantera att det inte förekommer HIV-1, HIV-2, hepatit C-virus, hepatit B eller andra smittämnen. Därför skall allt satsmaterial hanteras som potentiellt smittsamt material.
2. Alla patientprover skall hanteras på biosäkerhetsnivå 2 enligt vad som rekommenderas för eventuellt smittsamt humanserum eller blodprov i manualen från USA:s Centers for Disease Control/National Institutes of Health: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1999 Edition*.
3. Spädning av komponenter eller byte till andra komponenter än de som tillhandahålls kan ge motsäggande resultat.
4. Natriumazid (0,09 %) används som konserveringsmedel i vissa reagenser. Natriumazid kan reagera med bly- eller kopparledningar och bilda explosiva metallazidsalter. När reagenser kasseras skall man därför spola med stora mängder kranvatten för att för att förebygga eventuella rester i avloppsrör. Natriumazid är ett gift och kan vara toxiskt vid förtäring.
5. Denna sats är avsedd för diagnostisk användning *in vitro*.
6. Om hemolyserade eller lipemiska serum måste användas, skall inaktivt serum värmas i 30 minuter i 56 °C för optimala resultat. Mikrobiellt kontaminerade serum skall inte användas.
7. Undvik att röka, äta eller dricka i områden där prover eller satsreagenser hanteras.
8. Undvik alltid stänk eller alstring av aerosoler.
9. Andra inkubationstider och temperaturer än de som anges kan orsaka felaktiga resultat.
10. Korskontamination mellan reagenser eller prover kan ge felaktiga resultat.
11. Återanvändningsbart glas måste tvättas och sköljas noggrant och vara fritt från rengöringsmedel före användning. Allt glas måste rengöras och torkas före användning.
12. Placera alla reagenser, objektglas och prover i rumstemperatur (18-25 °C) före användning.
13. Använd engångshandskar vid hantering av prover och reagenser, och tvätta händerna noggrant efteråt.
14. Mikrobiell kontamination av reagenser eller prover kan ge felaktiga resultat.
15. Pipettera aldrig med munnen och undvik kontakt med reagenser och prover med hud eller slemhinnor. Tvätta med bakteriedödande tvål och rikligt med vatten om kontakt ändå inträffar.

PROVTAGNING

Provtagning: Serum rekommenderas som prov. Cirka 5 ml helblod skall tas aseptiskt genom venpunktion med hjälp av ett sterilt vakuumbloodtagningrör eller annat lämpligt blodprovtagningssystem. Låt blodet koagulera i rumstemperatur (18-25 °C). Serum skall separeras från koagler så snart som möjligt genom centrifugering för att minimera hemolys.

Störande ämnen: Serum som uppvisar en hög grad av hemolys, ikterus, lipemi eller mikrobiell tillväxt bör inte användas, eftersom dessa betingelser kan leda till felaktiga resultat. Prover som innehåller synliga partiklar bör klaras genom centrifugering före testning.

Förvaring: Serum kan förvaras i 2-10 °C under högst en vecka. Om analysen fördröjs ytterligare skall serum frysas i -20 °C eller lägre. Serum skall inte förvaras i självavfrostande kylskåp eller fryslagerum.

VAR FÖRSIKTIG: Upprepad frysning/upptining av patientprover kan ge felaktigt positiva eller felaktigt negativa resultat.

TOLKNING AV RESULTAT

KVALITETSKONTROLL

Positiva, negativa och PBS-kontroller skall testas en gång per körning. Den positiva kontrollen skall uppvisa ljus äppelgrön fluorescens i de tillämpliga vävnadsstrukturerna med ett klart urskiljbart mönster som är karakteristiskt för det kontrollserum som använts. Den negativa kontrollen skall uppvisa låg intensitet, ospecifik, mattgrön fluorescens i både cytoplasman och kärnan, men inget urskiljbart färgningsmönster. PBS-kontrollen används för att observera ospecifik färgning av antikroppsreagens och skall inte uppvisa någon grön fluorescens. Om kontrollerna inte ser ut enligt beskrivningarna är testet ogiltigt och skall upprepas.

Det är viktigt att fluorescensintensiteten inte blandas ihop med närvaro eller frånvaro av antikroppar. Huvudfaktorn att överväga vid avgörande om en viss spädning av serum är positiv är att det finns ett klart urskiljbart mönster, oavsett fluorescensfärgningens intensitet.

VALBARA TITRERBARA KONTROLLER

Titrerbara kontrollserum är avsedda för användning vid kontroll av reproducerbarhet mellan partier och körningar. De är inte avsedda som en mätning av analysens övergripande känslighet eller specificitet.

När man avläser titernivåer börjar många laboratorier med det prov som innehåller det mest utspädda provet och arbetar sig sedan "bakåt" till en 1:20-spädning.

Medelkoncentrationen och koncentrationsintervallet ($\pm$ en lösning på var sida av medelvärdet) som bestämdes för detta partinummer fastställdes i vårt laboratorium och gäller som riktlinje. Denna kontroll tillhandahålls för att tillåta varje laboratorium att utvärdera reproducerbarheten (precisionen) av sina prov. Eftersom denna kontroll inte är avsedd att vara en indikator av koncentrationens noggrannhet bör varje laboratorium skapa sin egen medelkoncentrationsändpunkt för detta prov och bör använda denna information för att utvärdera återkommande reproducerbarhet (precision).

Genom flera tester av koncentrationskontrollen med hjälp av Immuno Concepts Histofluor[®] Rodent LKS Fluorescent Antibody Test System har en medelkoncentration fastställts för varje partinummer. Partinumret, medelkoncentrationen och koncentrationsintervallet ($\pm$ en tvåfaldig lösning på varje sida av medelvärdet) finns angivna på flaskans etikett och gäller som riktlinje för provprestandan.

Värden från vårt laboratorium kan skilja sig från våra värden.

Några av de många faktorer som kan påverka dina resultat kan inkludera, men är inte begränsade till:

1. Den typ av ljuskälla som används. Kvicksilverljuskällor kommer att framställa större exciteringsenergi vid 495 nm än kvarts/halogen. Kvicksilverljuskällor på 50 watt, 100 watt och 200 watt skiljer sig inte mycket åt i exciteringsenergi vid 495 nm. 100 watts kvarts/halogen-ljuskällor kommer att framställa större exciteringsenergi vid 495 nm än 50 watts kvarts/halogen.
2. Ljuskällans skick och ålder. Detta gäller framför allt kvicksilverljuskällor som i allmänhet visar en gradvis minskning i exciteringsenergi vid 495 nm före utbränning. Denna gradvisa reduktion i exciteringsenergi kan leda till en märkbar förlust i känslighet över flera veckor. Detta problem kan undvikas genom att föra en loggbok. För bästa resultat, byt ut 50 watts kvicksilverglödlampor vid 100 timmar och 100 eller 200 watts kvicksilverglödlampor vid 200 timmar. Kvarts/halogen-ljuskällor visar i allmänhet inte en gradvis reduktion i exciteringsenergi före utbränning.
3. Den typ av matarfilter som används. Störningsmatarfilter ger större känslighet vid en mycket smalare våglängd än absorptionsmatarfilter. Hänvisa till manualen för ditt fluorescerande mikroskop eller säljrepresentant för mer information.
4. Korrekt inriktning av mikroskopljusets bana. Hänvisa till manualen för ditt fluorescerande mikroskop för anvisningar.
5. Objektivets numeriska bländaröppning. Med infallande ljusfluorescens (Epi) ökar fluorescensen exponentiellt, medan den numeriska bländaröppningen (NA) ökar additivt. Detta kan göra att ett 40X-objektiv med en NA på 0,65 läser en eller flera spädningar lägre än ett 40X-objektiv med en NA på 0,85. Den numeriska bländaröppningen står angiven på sidan av objektivet.
6. Spärrfilter. Spärrfilter minskar de speciella exciteringsvåglängderna och kan användas för att minska känsligheten. Hänvisa till manualen för ditt fluorescerande mikroskop eller säljrepresentant för mer information.
7. Precision och exakthet i spädningsteknik, utrustning, samt testmetodernas genomförande.

TOLKNING AV PATIENTRESULTAT

100X gångers total förstoring rekommenderas för att screena positivt/negativt, medan 200X total förstoring rekommenderas för mönsterigenkänning.

Negativt: Ett serum anses vara negativt om det inte finns ett klart urskiljbart mönster. Vävnaden kan visa svag färgning utan något tydligt urskiljbart mönster.

Positivt: Ett serum anses vara positivt om vävnaden visar ett klart urskiljbart färgningsmönster.

Titer: När man avläser titernivåer börjar många laboratorier med det prov som innehåller det mest utspädda provet och arbetar sig sedan "bakåt" till en 1:20-spädning. Den första källa där ett tydligt mönster är urskiljningsbart är titerändpunkten. Vi rekommenderar den här tekniken för att fastställa titerändpunkter. Det är viktigt att färgens intensitet inte förväxlas med närvaro eller frånvaro av antimitokondriella eller antiparietala antikroppar. Den viktigaste faktorn för att fastställa om en given spädning av ett serum är positiv är förekomsten av ett tydligt urskiljningsbart mönster, oberoende av färgintensiteten.

RAPPORTERING AV RESULTAT

Screening: Resultat ska rapporteras som positiva eller negativa vid spädningen 1:20 och färgningsmönstret skall rapporteras.

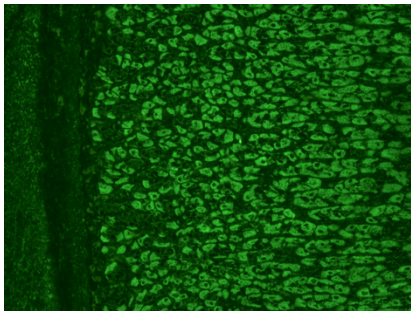
Titring: Resultat bör rapporteras som den sista seriespädningen där en tydlig färgning kan urskiljas. Resultat med en stark reaktion vid 1:320-spädning bör rapporteras som starkare än 1:320.

MÖNSTERDETEKTERING

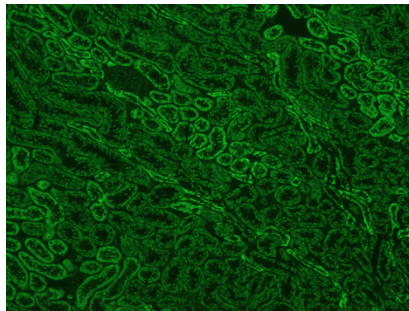
Antimitokondriella antikroppar (AMA): Granulär cytoplasmisk färgning av Kupffer-cellerna och hepatocyter i leversektionen; granulär cytoplasmisk färgning iakttages även i njurtubulerna, med den starkaste färgningen i de distala tubulerna, som är mer mitokondrieomfattande än proximala tubuler; cytoplasman i magcellerna visar också granulär färgning, med starkare färgning i de parietala cellerna än i huvudcellerna.

Antigen: Det mest vanligt detekterade antigenet i mitokondria är M2, som är ett komplex av flera antigenpeptider i pyruvatdehydrogenaskomplexet (PDH).

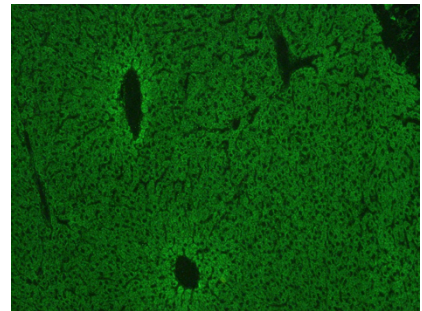
Sjukdomssamband: Antimitokondriella antikroppar observeras hos 95 % av patienter med primär biliär cirros (PBC) (4,5).



AMA på gnagarmage



AMA på gnagarnjure

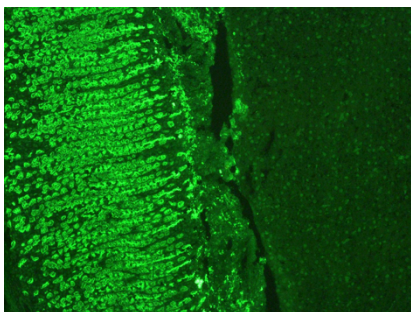


AMA på gnagarlever

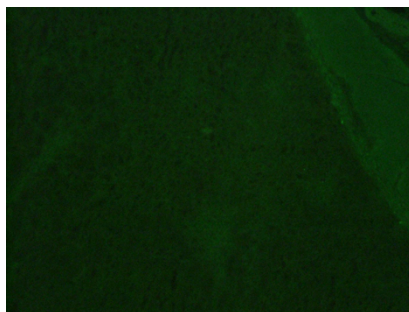
Antikroppar mot parietalceller (APCA): I magen visar vävnaden ljus granulär cytoplasmisk färgning av parietala celler i parallellt linjärt mönster, utan färgning av huvudcellerna. Antigenet uttrycks inte i gnagarnjuren eller -levern, så dessa vävnader är negativa, med endast fluorescens i bakgrunden.

Antigen: Antigenet är H⁺K⁺ATPase-protonpumpen.

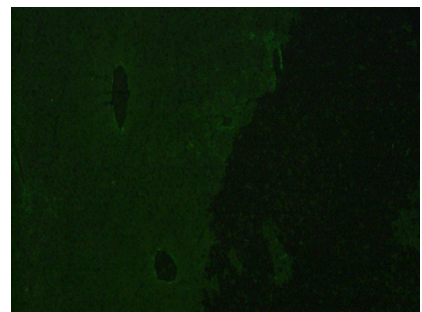
Sjukdomssamband: APCA finns i mer än 90 % av patienter med perniciös anemi. Atrofisk gastrit föregår ofta perniciös anemi, vilket innebär att antikroppar även kan observeras hos patienter med autoimmun atrofisk gastrit (6,7).



APCA på gnagarmage



APCA på gnagarnjure (negativt)

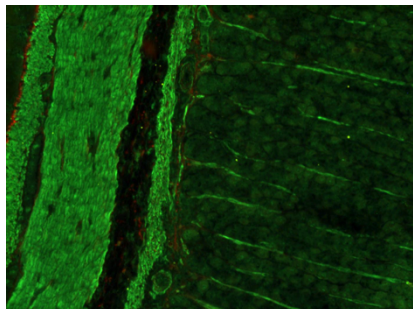


APCA på gnagarlever (negativt)

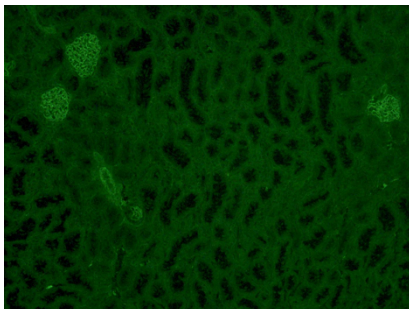
Antikroppar mot glatt muskulatur (ASMA): I magen uppvisar vävnaden ljus färgning av glattmuskelfibrer i muskularis propria, muscularis mucosa, området mellan körtlarna och glattmuskelskikten i artärerna. I levern visar vävnaden ljus färgning av glattmuskelfibrerna i artärväggarna. I njuren kan höga titrar med antikroppar mot aktin ha korsreaktion med tubulinfibrer i glomeruli.

Antigen: Aktin är det stora kliniskt viktiga antigenet, men antikroppar mot vimentin, tubulin, desmin och andra proteiner i glattmuskelfibrerna har också beskrivits.

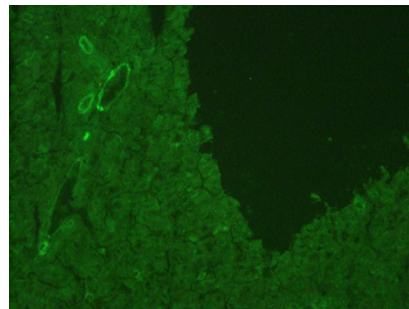
Sjukdomssamband: Autoimmun kronisk hepatit (typ 1) (8-10).



ASMA på nagarmage



ASMA på nagarnjure



ASMA på nagarlever

TESTETS BEGRÄNSNINGAR

1. Det går inte att ställa diagnos baserat på endast antikroppsdetektering med nagarvävnader. Läkaren måste tolka dessa resultat i samband med patientens historia och symtom, fysiska rön och andra diagnostiska procedurer.
2. Behandling skall inte initieras endast baserat på ett positivt test för antikroppar. Kliniska indikationer, andra laboratorierön och läkarens kliniska intryck måste övervägas innan någon behandling initieras.
3. Även om en positiv reaktion kan tyda starkt på sjukdom i bindvävnaden skall den inte anses vara diagnostisk utan istället betraktas som del av patientens generella kliniska historia.
4. Färgningsmönster kan förändras med progressiv titrering av serum. Detta fenomen beror vanligtvis på att det finns mer än ett sjukdomstillstånd.
5. På grund av de många alternativ som finns tillgängliga när det gäller fluorescerande mikroskop, rekommenderas det att ljuskällor, filter och optik standardiseras vid jämförelse av patienttitreringar mellan laboratorier.
6. Immuno Concepts rekommenderar användning av odlade, transfekterade celler (HEp-2000®) för att bestämma ANA och förespråkar inte användning av nagarvävnad för ANA-detektion eller-identifiering.

PRESTANDAEGENSKAPER

Histofluor® Rodent LKS-testsystemet jämfördes med ett annat testkit för immunofluorescerande antikroppar i nagarvävnad som finns på marknaden och som använder 170 kliniskt karakteriserade prover. Proverna testades på tre olika platser och analyserades av tre operatörer vid varje plats. Informationen nedan erhöles genom konventionell fluorescensmikroskopi. Överensstämmelsevärdena utgör en konsensusbedömning av de två bästa av tre resultat från de tre platserna.

Vävnad från Råtta

Positiv överensstämmelse: 92,3 % (79,0-98,1)
Mönsteröverensstämmelse: 92,3 % (79,0-98,1)
Negativ överensstämmelse: 97,8 % (93,4-99,5)
Övergripande överensstämmelse: 98,2 % (94,7-99,6)

Vävnad från Mus

Positiv överensstämmelse: 94,4 % (80,9-99,4)
Mönsteröverensstämmelse: 94,4 % (80,9-99,4)
Negativ överensstämmelse: 98,5 % (94,5-99,9)
Övergripande överensstämmelse: 98,8 % (95,5-99,9)

ANVÄND MED IMAGE NAVIGATOR®

Image Navigator® är Immuno Concepts halvautomatiserade mikroskopssystem för analys av Histofluor® fluorescerande preparat. En jämförelse mellan monitoravläsning med Image Navigator® och en konventionell avläsning av Histofluor® Rodent LKS-testsystemets fluorescerande gnagarvävnadspreparat utfördes med 170 kliniskt karakteriserade prover som testades vid tre platser och avlästes av tre operatörer på varje plats. Överensstämmelsevärdena utgör en konsensusbedömning av de två bästa av tre resultat från de tre platserna.

Vävnad från Råtta

Positiv överensstämmelse: 100 % (87,9-100)

Mönsteröverensstämmelse: 100 % (87,9-100)

Negativ överensstämmelse: 100 % (96,6-100)

Övergripande överensstämmelse: 100 % (97,3-100)

Vävnad från Mus

Positiv överensstämmelse: 100 % (88,5-100)

Mönsteröverensstämmelse: 100 % (88,5-100)

Negativ överensstämmelse: 100 % (96,7-100)

Övergripande överensstämmelse: 100 % (97,3-100)

Klinisk känslighet för detektion av autoantikroppar hos patienter som fått diagnosen perniciös anemi, autoimmun hepatit typ 1 eller primär biliär cirros visas i tabellerna nedan. I dessa studier användes en brytpunktsutspädning på 1:20 för bestämning av positiva prover.

Klinisk Känslighet (95% CI)		Histofluor® Muslever/-Njure/-Mage			
Diagnos	N	Konventionell	% Positiva	Image Navigator®	% Positiva
Perniciös Anemi	12	5	41.7% (19.3-68.1)	5	41.7% (19.3-68.1)
Autoimmun Hepatit Typ 1	19	9	47.4% (27.3-68.3)	9	47.4% (27.3-68.3)
Primär Biliär Cirros	18	15	83.3% (60.0-95.0)	15	83.3% (60.0-95.0)

Klinisk Känslighet (95% CI)		Histofluor® Råttalever/-Njure/-Mage			
Diagnos	N	Konventionell	% Positiva	Image Navigator®	% Positiva
Perniciös Anemi	12	6	50.0% (25.4-74.6)	6	50.0% (25.4-74.6)
Autoimmun Hepatit Typ 1	19	9	47.4% (27.3-68.3)	9	47.4% (27.3-68.3)
Primär Biliär Cirros	18	15	83.3% (60.0-95.0)	15	83.3% (60.0-95.0)

Klinisk specificitet bestämdes i en grupp av 121 patienter med andra autoimmuna sjukdomar än perniciös anemi, autoimmun hepatit typ 1 eller primär biliär cirros. Data från dessa jämförelser visas i tabellen nedan. I dessa studier användes en brytpunktsutspädning på 1:20 för bestämning av positiva prover.

Klinisk Specificitet (95% CI)		Histofluor® Muslever/-Njure/-Mage			
Grupp	N	Konventionell	% Negativa	Image Navigator®	% Negativa
Autoimmuna Patienter	121	114	94.2% (88.3-97.4)	114	94.2% (88.3-97.4)

Klinisk Specificitet (95% CI)		Histofluor [®] Rättalever/-Njure/-Mage			
Grupp	N	Konventionell	% Negativa	Image Navigator [®]	% Negativa
Autoimmuna Patienter	121	113	93.4% (87.3-96.8)	113	93.4% (87.3-96.8)

Precision: I enlighet med CLSI EP05-A3-krav testades tretton prover i tre exemplar i tio händelser på tre oberoende platser. Provsatsen inkluderade fyra AMA-positiva prover, fyra APCA-positiva prover, fyra ASMA-positiva prover och ett negativt prov. Varje resultat lästes konventionellt och med Image Navigator[®] av två avläsare. För att presentera datan i ett halvkvantitativt format visas titerändpunktsavtal nedan för inom platser och mellan platser. Alla överensstämmelser var > 90,0 %.

Multi-plats-, Multi-avläsarreproducibilitet (% överensstämmelse med 95 % konfidensintervall)								
Substrat	Analys	n	Konventionell			Monitor (halvautomatisk)		
			Site 1 v 2	Site 1 v 3	Site 2 v 3	Site 1 v 2	Site 1 v 3	Site 2 v 3
RÅTTA	Positiva	720	100.0% (99.4-100)	100.0% (99.4-100)	100.0% (99.4-100)	100.0% (99.4-100)	100.0% (99.4-100)	100.0% (99.4-100)
	Negativa	60	100.0% (92.8-100)	100.0% (92.8-100)	100.0% (92.8-100)	100.0% (92.8-100)	100.0% (92.8-100)	100.0% (92.8-100)
	Mönster	720	100.0% (99.4-100)	100.0% (99.4-100)	100.0% (99.4-100)	100.0% (99.4-100)	100.0% (99.4-100)	100.0% (99.4-100)
	± 1 Titer	720	95.4% (93.6-96.7)	95.8% (94.1-97.1)	96.5% (94.9-97.7)	95.3% (93.5-96.6)	95.3% (93.5-96.6)	96.7% (95.1-97.8)
MUS	Positiva	720	100.0% (99.1->99.9)	100.0% (99.4-100)	100.0% (99.1->99.9)	100.0% (99.1->99.9)	100.0% (99.4-100)	100.0% (99.1->99.9)
	Negativa	60	100.0% (92.8-100)	100.0% (92.8-100)	100.0% (92.8-100)	100.0% (92.8-100)	100.0% (92.8-100)	100.0% (92.8-100)
	Mönster	720	100.0% (99.1->99.9)	100.0% (99.4-100)	100.0% (99.1->99.9)	100.0% (99.1->99.9)	100.0% (99.4-100)	100.0% (99.1->99.9)
	± 1 Titer	720	94.9% (93.0-96.3)	97.8% (96.4-98.7)	94.4% (92.5-95.9)	96.8% (95.2-97.9)	98.9% (97.8-99.5)	96.5% (94.9-97.7)

KÄLLFÖRTECKNING

1. Nakamura RM, Chisari FV, Edington TS. Laboratory tests for diagnosis of autoimmune diseases. Prog Clin Pathol. 1975;6:177-203.
2. Craig WY, Ledue TB, Collins MF, et al. Serologic associations of anti-cytoplasmic antibodies identified during anti-nuclear antibody testing. Ciin Chem Lab Med. 2006;44:1283-1286.
3. Weller TH, Coons AH Fluorescent Antibody Studies with Agents of Varicella and Herpes Zoster Propagated in vitro. Proc Soc Exp Biol Med. 1954;86:789-794.
4. Jones DEJ. Autoantigens in primary biliary cirrhosis. J Clin Pathol. 2000;53:813-821.
5. Purohit T, Cappell MS. Primary biliary cirrhosis: Pathophysiology, clinical presentation and therapy. World J Hepatol. 2015;7:926-941.
6. Toh B-H. Pathophysiology and laboratory diagnosis of pernicious anemia. Immunol Res. 2017;65:326-330.
7. De Aizpurua HJ, Cosgrove LJ, Ungar B, Toh B-H. Autoantibodies cytotoxic to gastric parietal cells in serum of patients with pernicious anemia. NEJM. 1983;309:625-629.
8. Liberal R, Mieli-Vergani G, Vergani D. Clinical significance of autoantibodies and autoimmune hepatitis. J Autoimm. 2013;46:17-24.
9. Dalekos GN, Zachou K, Liaskos C, et al. Autoantibodies and defined target the auto antigens in autoimmune hepatitis: an overview. Eur J Intern Med. 2002;13:293-303.
10. Czaja AJ. Behavior and significance of autoantibodies in type 1 autoimmune hepatitis. J Hepatol. 1999;30:394-401.

Om det skulle uppstå skada på skyddsförpackningen, kontakta Immuno Concepts före användning.



Tillverkare



Auktoriserad EU-representant



Temperaturbe
gränsning



Innehåller tillräckligt för <n>
tester



Se
bruksanvisningen



In vitro diagnostisk medicinsk
apparat



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
D-30175 Hannover, Tyskland



Endast Rx - endast på ordination

Immuno Concepts, N.A. Ltd. 9825 Goethe Road, Suite 350 Sacramento, CA 95827, USA

Teknisk support USA: 1.800.251.5115 Utanför USA: +1-916-363-2649

E-post: technicalsupport@immunoconcepts.com

Kat 12000-02-I,

4.11.02.003.140-Sv

Rev 2.1

© Copyright 2019

HISTOFLUOR® FLUORESCERANDE TESTPROCEDUR PÅ GNAGARVÄVNAD

OBS! Om laboratoriet använder ett automatiserat system för bearbetning av prover skall tillverkarens förfaranden och rekommendationer följas. Systemet för bearbetning av objektglas skall ha programmerats för lämpliga provspädningar, dispenseringsvolym och inkubationstider enligt vad som beskrivs nedan

- 1. REKONSTITUTION AV BUFFERT (PBS)**
Lös upp innehållet i en buffertpåse i en liter avjoniserat eller destillerat vatten. PBS-bufferten kan täckas och förvaras i 2-25 °C i högst fyra veckor.
- 2. SPÄDNING AV PATIENTPROVER**
Screening: Späd patientprover till 1:20 genom att tillsätta 0,05 ml (50 µl) serum till 0,95 ml (950 µl) rekonstituerad PBS.
Halvkvantitativ titrering: späd screeningprov(er) och den titerbara kontrollen serisllt (t. ex. 1:40, 1:80, 1:160, 1:320) genom att använda PBS.
- 3. IORDNINGSTÄLLANDE AV OBJEKTGLAS FÖR SUBSTRAT (30-40 µl/brunn)**
Avlägsna objektglaset/-glasen från påsen/påsarna och placera kontrollserum på kontrollbrunnarna enligt följande: Vänd upp och ned på kontrollpipettflaskan och kläm försiktigt tills det syns en droppe på spetsen. För försiktigt droppen till rätt kontrollbrunn, men undvik direktkontakt mellan pipettspetsen och objektglasets yta. Tillsätt 1 droppe (30-40 µl) patientprov i de numererade brunnarna.
OBS! För allmän screening rekommenderas den anti-mitokondriella positiva kontrollen. För halvkvantitativ titrering, en titrerbar kontroll, ska antingen katalognummer 12261-02, 12262-02 eller 12263-02 köras med varje patientprov. Alla mönsterkontroller ska köras med varje kitpartinummer för att påvisa det förväntade utseendet på ANA-mönstren.
VAR FÖRSIKTIG: DIREKTCONTACT MELLAN PIPETTSPETSEN OCH OBJEKTGLASETS YTA KAN LEDA TILL ATT ANTIGENSUBSTRATET TAR SKADA.
- 4. INKUBATION AV OBJEKTGLAS (30 ± 5 minuter i rumstemperatur d.v.s. 18-24 °C)**
Placera ett eller flera objektglas i en fuktig täckt kammare (en petriskål med fuktad pappershandduk går bra). Inkubera, med locket på, i 30 minuter (± 5 minuter) i rumstemperatur (18-24 °C).
- 5. PBS-SKÖLJNING**
Avlägsna ett eller flera objektglas från inkubatorbrickan och skölj hastigt med PBS genom att använda en sprutflaska, Pasteur, eller serologisk pipett. Spruta inte buffert direkt på brunnarna.
OBS! Led PBS-flödet längs objektglasets mittlinje för att undvika korskontamination på objektglasen genom att först luta objektglaset mot den övre raden med brunnar och därefter mot den nedre raden med brunnar.
- 6. PBS-TVÄTTNING (10 minuter)**
Tvätta objektglaset/-glasen under tio minuter med PBS i en färgningsskål för objektglas eller ett Coplin-kärl. Denna tvättning kan förlängas med 10-30 minuter utan att de slutliga testresultaten påverkas. Kassera PBS-tvättlösningen efter användning.
- 7. FLUORESCERANDE ANTIKROPPSREAGENS (täck brunnarna med 12-14 droppar)**
Avlägsna ett objektglas åt gången från PBS. Knacka objektglasets sida mot läskpapper eller pappershandduk för att avlägsna överskottsbuffert. Återför omedelbart objektglaset till inkubationskammaren och täck brunnarna helt med fluorescerande antikroppsreagens. Börja med att placera en droppe över varje brunn. Upprepa detta för varje objektglas. Fluorescerande antikroppsreagens har titrerats för att kompensera för buffert som finns kvar på objektglaset efter sköljning.
OBS! Det är viktigt att objektglasbrunnarna inte torkar ut under detta förfarande för då kan substratet skadas.
- 8. INKUBATION AV OBJEKTGLAS (30 ± 5 minuter i rumstemperatur d.v.s. 18-24 °C)**
Placera locket på inkubationskammaren och täck med en pappershandduk för att förhindra att det utsätts för ljus, om kammaren inte är ogenomskinlig. Inkubera objektglaset/-glasen i 30 minuter (± 5 minuter) i rumstemperatur (18-24 °C).
- 9. PBS-SKÖLJNING**
Avlägsna objektglaset/-glasen från inkubatorbrickan och skölj hastigt med PBS. Spruta inte buffert direkt på brunnarna.
- 10. PBS-TVÄTTNING (10 minuter)**
Tvätta objektglaset/-glasen under tio minuter med PBS i en färgningsskål för objektglas eller ett Coplin-kärl. Denna tvättning kan förlängas med 10-30 minuter utan att de slutliga testresultaten påverkas när mottfärgning inte används.
- 11. MONTERING AV SKYDDSREMSOR**
Avlägsna ett objektglas åt gången från PBS. Knacka objektglasets sida mot läskpapper eller pappershandduk för att avlägsna överskottsbuffert.
TORKA ALDRIG OBJEKTGLASET MED LÄSKPAPPER ELLER ANNAT FÖREMÅL OCH LÅT ALDRIG OBJEKTGLASET STÅ UTAN SKYDDSREMSA UNDER LÄNGRE ÄN (15) FEMTON SEKUNDER. Tillsätt 4-5 droppar halvpermanent monteringsmedium i längs mittlinjen på varje objektglas. Sätt försiktigt skyddsremsan på plats och undvik luftfickor genom att försiktigt lägga ned skyddsremsan från objektglasets ena ände till den andra.
OBS! Överflödigt monteringsmedium på objektglaset kan leda till hög bakgrundsfluorescens på grund av ljusspridning, eller brist på tydlig upplösning av celler (suddig bild). Överflödigt monteringsmedium kan avlägsnas från objektglaset genom att försiktigt torka skyddsremsan med läskpapper eller linspapper samtidigt som man undviker all direkt beröring av skyddsremsan.
- 12. AVLÄSA OBJEKTGLAS**
Om objektglaset ska avläsas med hjälp av konventionell fluorescerande mikroskopi kan den läsas av direkt genom att använda laboratoriets standardförfarande. Objektglasen måste alltid avläsas av en utbildad användare som är bekant med tolkning av och mönster i fluorescerande vävnad. Kontakta leverantören av det fluorescerande mikroskopet för användarinstruktioner för mikroskopet.

Om skivan som ska läsas med hjälp av Image Navigator®, Immuno Concepts automatiska mikroskopi och bildtagningssystem så ska du läsa användarhandboken för Image Navigator®-systemet. Image Navigator® tar digitala bilder av varje prov och presenterar en panoramavy av vävnadsprovet för granskning av en utbildad användare. Image Navigator® får endast användas av en utbildad användare.

FÖR TEKNISK SUPPORT:

USA: 1-800-251-5115 Utanför USA: +1-916-363-2649
E-postadress: technicalsupport@immunoconcepts.com

