

ENACHECK



Kat.č.: 5453

Pro *in vitro* diagnostiku.

IMUNOBLOT pro detekci IgG protilátek proti extrahovatelným jaderným antigenům autoimunitních revmatických chorob (kolagenová cévní onemocnění) v lidském krevním séru nebo plazmě.

1. Obecné aspekty

ENACHECK je *in vitro* test pro detekci IgG protilátek proti charakteristickým cytoplazmatickým a nukleárním antigenům v lidském krevním séru a plazmě.

Tento imunoblot je navržen jako průkazný test pro odlišení revmatických chorob způsobených autoimunitními poruchami od jiných chorob.

2. Autoimunitní revmatické choroby

Autoprotilátky jsou imunoglobuliny zaměřené proti endogenním strukturám a lze je detekovat v séru, plazmě a dalších tělesných tekutinách. V případě kolagenového cévního onemocnění, kdy je zasažena pojivová tkáň, dochází k tvorbě zánětu, ztrátě elasticity a vzniku bolesti.

Podle klinických symptomů se tyto choroby připisují revmatickým poruchám, také známým jako choroby pojivové tkáně.

- Systémový lupus erythematoses (SLE)
- Sjögrenův syndrom (SjS)
- Smíšené onemocnění pojivové tkáně (MCTD)
- Progresivní systémová scleroderma (PSS)
- Myositida

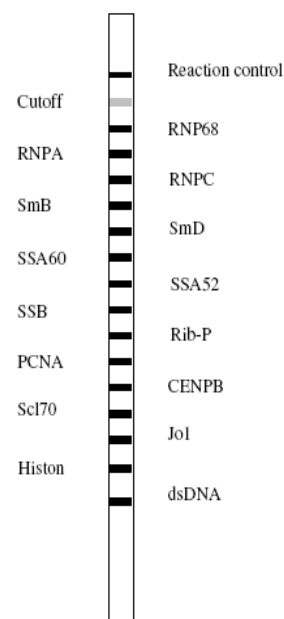
Ačkoli patogenetický význam autoprotiátek ještě není zcela objasněn, stanovení autoprotiátek je důležité s ohledem na stanovení diagnózy.

3. Diagnostika

Rekombinantní antigeny, nativní histony, dsDNA lidského původu a směs rekombinantních a syntetických SmD jsou imobilizovány na nitrocelulóзовé membráně v následujícím pořadí:

V tomto testu je použito 13 rekombinantních antigenů:

| | |
|-----------|---|
| RNP68 | specifický ribonukleoprotein (68 kDa) součást spliceozomu |
| RNPA | specifický ribonukleoprotein (34 kDa) součást spliceozomu |
| RNPC | specifický ribonukleoprotein (22 kDa) součást spliceozomu |
| SmB | smith-protein B (28 kDa), jaderný protein spliceozomu |
| SmD | smith-protein D (16 kDa), jaderný protein spliceozomu |
| SSA60 | součást malých cytoplazmatických ribonukleoproteinkomplexů hY-RNP, zapojeného do translace mRNA |
| SSA52 | součást malých cytoplazmatických ribonukleoproteinkomplexů hY-RNP, zapojeného do translace mRNA |
| SSB | fosfoprotein-součást malých cytoplazm. ribonukleoprotein-komplexů hY-RNP, zapojených do terminace transkripce RNA-polymerasou-III |
| Rib-P | kyselý fosfoprotein (36 kDa) ribozomálních RNPs nezbytných pro translaci |
| PCNA | jaderný antigen proliferujících buněk (36 kDa), cyklin a asistenční protein DNA-polymerasy δ |
| CENPB | centromerprotein B (80 kDa), účast při segregaci chromozomů dělicích se buněk |
| Sc1 70 | DNA-topoisomerasa I (100 kDa) |
| Jo-1 | Histidyl-tRNA-synthetase (50 kDa) |
| Histon H1 | nativní histon H1 |
| dsDNA | lidská dsDNA |



4. Princip testu

Antigeny ENACHECKu jsou odvozeny z antigenů *E. coli* buněk nebo Sf21 hmyzích buněk a pomocí chromatografických metod jsou vysoce purifikovány. Díky tomu nedochází k rušení a křížovým reakcím jednotlivých antigenů.

Na nitroceluloseovou membránu jsou navázány rekombinantní, vysoce purifikované proteiny, nativní histony, dsDNA a směs rekombinačních a syntetických SmD. Matrice je poté rozstříhána na stripy.

Stripy jsou inkubovány s naředěným sérem nebo plazmou, čímž dochází k navázání protilátek specifických k antigenům na stripu. Nevyvázané protilátky jsou poté odmyty a v druhém kroku jsou stripy inkubovány s anti-lidskými IgG značenými křenovou peroxidásou. Specificky vyvázané protilátky jsou detekovány pomocí barevné reakce katalyzované peroxidásou. Dojde-li k vazbě mezi antigenem a protilátkou, objeví se na příslušném místě stripu tmavý proužek – tzv. band.

Na horním konci každého testovacího stripu jsou vedle sebe dva kontrolní proužky:

1. kontrola reakce pod číslem testovacího proužku: musí se objevit při každém testu
2. cut-off kontrola: pro kontrolu barvicího procesu a k vyhodnocení testovacího proužku; intenzita zbarvení tohoto bandu poskytuje základ pro hodnocení reaktivity protilátek jako pozitivní, dubiozní nebo negativní.

5. Obsah soupravy

Každá souprava obsahuje reagentie v množství dostačujícím pro **20 vyšetření**:

| | | |
|---------------------------------|--------------|---|
| Testovací proužky | 2 x | zkumavka s 10 číslovanými testovacími proužky potaženými rekombinantními antigeny, nativními histony a směsí rekombinačních a syntetických SmD |
| Promývací roztok A 10x | 100 ml | Promývací roztok A (10x koncentrovaný) obsahující fosfátový pufr, NaCl, KCl, detergent, konzervační látky methylisothiazolon (<0,1%) a oxypyron (<0,2%) |
| Mléčný prášek | 2 x 2,5 g | prášek sbíraného mléka |
| TMB substrát | 40 ml | roztok tetramethylbenzidinu (přímo k použití) |
| Konjugát IgG | 500 µl | králičí anti-lidská IgG konjugovaná s HRP (100x koncentrovaná, zelený uzávěr), obsahuje NaN ₃ (<0,1%), MIT (<0,1%), chloracetamid (<0,1%) |
| Inkubační misky s krycím víčkem | 2 x | |
| Plastová pinzeta | 1 x | |
| Návod k použití | 1 x | |
| Vyhodnocovací tabulka | 1 x | |

6. Další potřebné reagentie a vybavení, které nejsou součástí soupravy

- deionizovaná voda
- vakuový odsávací systém s odpadní nádobou a desinfekcí na dekontaminaci infekčních roztoků
- mikropipety s jednorázovými špičkami
- třepačka na bloty
- odměrný válec

7. Informace o testu a reagensích

Bezpečnostní opatření

- Pracujte v ochranných rukavicích.
- Konjugát obsahuje azid sodný, MIT a chloracetamid. Vyhněte se kontaktu s kůží a sliznicemi.
- Všechny reagensie a materiál, který přijde do kontaktu s potenciálně infekčními vzorky, musí být před likvidací desinfikovány nebo autoklávovány 1 hodinu při 121°C.
- Se stripy pracujte opatrně pomocí plastové pinzety.
- Inkubační misky nepoužívejte opakovaně.

7.1 Zacházení se soupravou

- Reagensie skladujte při teplotě 2–8°C, nezmrazujte. Všechny komponenty soupravy nechte před použitím nejméně 30 minut temperovat při laboratorní teplotě. Celá procedura je prováděna při laboratorní teplotě.
- Před samotnou analýzou testovaná séra a konjugát dobře protřepte.
- Zkumavky obsahující testovací proužky otvírejte teprve těsně před použitím, aby v nich nedocházelo ke kondenzaci vlhkosti. Nepoužité proužky nechejte ve zkumavce a dále skladujte při 2–8°C (zkumavku uzavírejte velmi pevně, proužky nesmí zvlhnout!).
- Nepoužívejte soupravu po uplynutí doby expirace. Nezaměňujte reagensie pocházející z různých výrobních šarží.
- Testovací stripy jsou očíslovány a označeny zkratkou příslušného testu
- Chraňte všechny součásti soupravy před přímým slunečním světlem.
- Test musí provádět zaškolený pracovník.
- Automatizace je možná – kontaktujte dodavatele

7.2 Příprava roztoků

Příprava promývacího roztoku A k přímému použití

Pufr je používán k promývání a k ředění vzorků séra a konjugátu. Podle počtu testovaných proužků připravte odpovídající objem promývacího pufru (dle tabulky 1). Nejprve rozpustíte mléčný prášek v koncentrátu promývacího pufru a pak ke směsi přidejte deionizovanou vodu (ředění 1+9). Takto připravený promývací roztok A může být uchováván při 2 - 8 °C po dobu 4 týdnů.

Tabulka 1: Příprava promývacího pufru

| Počet použitých test. stripů | Mléčný prášek | Koncentrát promývacího pufru | Deionizovaná voda | Promývací pufř k přímému použití |
|------------------------------|---------------|------------------------------|-------------------|----------------------------------|
| 1 | 0,1 g | +2 ml | +18 ml | =20 ml |
| 2 | 0,2 g | +4 ml | +36 ml | =40 ml |
| 3 | 0,3 g | +6 ml | +54 ml | =60 ml |
| 5 | 0,5 g | +10 ml | +90 ml | =100 ml |
| 10 | 1 g | +20 ml | +180 ml | =200 ml |
| 20 | 2 g | +40 ml | +360 ml | =400 ml |
| 25 | 2,5 g | +50 ml | +450 ml | =500 ml |

Příprava roztoku IgG konjugátu

Pracovní roztok konjugátu musí být připraven bezprostředně před použitím. Konjugát připravený k přímému použití nelze dále skladovat. Jeden díl koncentrovaného IgG konjugátu

je ředěn 100 díly pracovního ředění promývacího roztoku (1+100). Použité objemy jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2: Objemy pro ředění IgG konjugátu

| Počet použitých test. stripů | Koncentrovaný IgG konjugát | Promývací roztok připravený k přímému použití |
|------------------------------|----------------------------|---|
| 1 | 20 µl | 2 ml |
| 2 | 40 µl | 4 ml |
| 3 | 60 µl | 6 ml |
| 5 | 100 µl | 10 ml |
| 10 | 200 µl | 20 ml |
| 15 | 300 µl | 30 ml |
| 20 | 400 µl | 40 ml |

Roztok substrátu

Substrát je připraven k přímému použití! Roztok nechejte vytemperovat na laboratorní teplotu (18-25°C). Pipetujte vždy čistou špičkou, aby nedošlo ke kontaminaci roztoku substrátu a následnému snížení senzitivity testu.

7.3 Skladování a stabilita

Reagencie skladujte při teplotě 2-8°C.

Pracovní ředění promývacího pufu může být při 2-8°C skladováno po dobu 4 týdnů.

Roztok konjugátu musí být připraven vždy čerstvý.

8. Vzorky

Vzorek séra nebo plasmy separujte bezprostředně po odběru.

Dbejte na to, aby nedošlo k mikrobiální kontaminaci vzorků. Nerozpustné substance ze vzorků odstraňte centrifugací.

Lipemické, hemolytické nebo zakalené vzorky zvyšují pozadí reakční hladiny, čímž snižují validitu výsledků, a proto nesmí být používány.

Důležité! *Není-li test proveden okamžitě, mohou být vzorky skladovány maximálně 2 týdny při teplotě 2-8°C. Déle lze vzorky skladovat při minimální teplotě -20°C. Opakované zmrazování a rozmrazování vzorků není doporučováno, zhoršuje se tím kvalita výsledků.*

9. Postup testu

9.1. Obecně:

Reprodukovatelnost výsledků závisí velkou mírou na důsledném promývání testovacích stripů.

9.2. Inkubace vzorků

1. Jeden žlábek inkubační misky je určen pro jedno testované sérum. Do každého žlábků pipetujte 2 ml pracovního ředění promývacího pufu A. Následně každý testovací proužek (označenou stranou vzhůru) pomocí plastové pinzety opatrně ponořte do příslušného žlábků naplněného promývacím pufrem.

Důležité! *Proužky musí být v promývacím pufu A zcela ponořeny. Zkumavku a číslo použitého proužku si zaznamenejte do vyhodnocovací tabulky.*

2. Přidání vzorků

Pracovní postup: 20µl neředěného vzorku (lidské sérum nebo plasma) je pipetováno do odpovídajícího žlábků (vznikne tak ředění 1 + 100).

Zaznamenejte čísla vzorků do vyhodnocovací tabulky.

Zakryjte inkubační misku plastovým krytem a za jemného třepání při pokojové teplotě 1 hodinu inkubujte.

Důležité! *Dejte pozor, at' se inkubované roztoky nedostanou do jiných žlábků; zabraňte zejména vystříknutí tekutiny při otevírání a zavírání víčka (riziko křížové kontaminace).*

9.3. Promytí

1. Po inkubaci opatrně sejměte plastové víčko z inkubačních misek.

2. Naředěné séra z jednotlivých žlábků opatrně odsajte.

Důležité! *Každý roztok odsávejte čistou nebo v deionizované vodě důkladně vypláchnutou špičkou, aby nedošlo ke křížové kontaminaci vzorků. Při použití automatické promývačky dbejte pokynů výrobce.*

3. Poté pipetujte do každého žlábků 2 ml pracovního ředění promývacího pufru a pro důkladné promytí 5 minut jemně třepejte. Po uplynutí této doby promývací pufr odsajte.

4. Opakujte **tříkrát** bod 3.

9.4. Inkubace s konjugátem

Po promytí proužků pipetujte do každého žlábků 2 ml připraveného roztoku **konjugátu** (viz tabulka 2) a za jemného třepání při pokojové teplotě inkubujte **45 minut**. Inkubační miska musí být opět zakryta plastovým víčkem.

9.5. Promytí

Roztok konjugátu z jamek odsajte a proužky opět promyjte (9.3.).

9.6. Reakce se substrátem

1. Do každého žlábků přidejte **1.5 ml** roztoku substrátu a za mírného třepání inkubujte při pokojové teplotě. Reakci nepřetržitě pozorujte.

2. Pozorujte barvicí proces. Barvení by mělo trvat cca **4 minuty**. Reakci můžete ukončit, jakmile je viditelný kontrolní band **cut-off**.

9.7. Ukončení reakce

1. Po odsátí roztoku proužky **tříkrát krátce** promyjte v deionizované vodě.

2. Poté je pinzetou opatrně vyjměte, vložte mezi 2 vrstvy savého papíru a vysoušejte asi 2 hodiny. Proužky pak můžete přilepit k přiložené vyhodnocovací tabulce. Výsledek zapište do protokolu.

3. Proužky by měly být skladovány tak, aby byly chráněny před světlem.

10. Souhrn pracovního postupu

| | |
|-----|--|
| 1. | Vytemperujte všechny reagenty na pokojovou teplotu. |
| 2. | Pipetujte 2 ml pracovního ředění promývacího pufru do každého žlábků inkubační misky a plastovou pinzetou opatrně vložte testovací proužek označenou stranou vzhůru. Proužky musí být zcela ponořeny. |
| 3. | Do odpovídajícího žlábků pipetujte 20 µl neředěného vzorku. |
| 4. | Inkubační misku zakryjte a za jemného třepání inkubujte 1 hodinu při pokojové teplotě |
| 5. | Třikrát po 5 minutách na třepače promyjte |
| 6. | Do každého žlábků pipetujte 2 ml připraveného roztoku konjugátu |
| 7. | Misku zakryjte a za jemného třepání inkubujte 45 minut při pokojové teplotě |
| 8. | Třikrát po 5 minutách na třepače promyjte |
| 9. | Do každého žlábků pipetujte 1.5 ml roztoku substrátu a jemného třepání cca 4 minuty inkubujte při pokojové teplotě |
| 10. | Proužky promyjte nejméně třikrát v deionizované vodě |
| 11. | Proužky nechte 2 hodiny sušit mezi dvěma vrstvami savého papíru. Odečtěte výsledek a vyhodnoťte |

11. Vyhodnocení**11.1 Hodnocení intenzity proužků**

- Do vyhodnocovací tabulky zaznamenejte datum, šarži a číslo zkumavky, stejně jako detekovanou třídou protilátek.
- Do protokolu zadejte identifikační čísla vzorků.
- Nyní přiložte odpovídající testovací proužek na odpovídající políčko vyhodnocovací tabulky bandem kontroly reakce na označenou linii. K fixaci proužku použijte pravítko a průhlednou lepící páskou jej připevněte nad označenou linii. Úplné přilepení testovacího proužku lepidlem nebo průhlednou lepící páskou může vést ke změnám zbarvení.
- Nyní vyhodnoťte zbarvené bandy na testovacím proužku (viz tabulka 3) a výsledek zapište do vyhodnocovací tabulky a do protokolu.

11.2. Kontrolní výsledky

Test může být hodnocen, pokud jsou splněna následující kritéria:

- Kontrolní band reakce (nejvrchnější) je výrazně zbarvený, tmavý.
- Cut-off kontrola (čtvrtý band): slabé, ale jasně evidentní zbarvení.

Tabulka 3: Intenzita proužků v závislosti na cut-off kontrole

| Proužek | Intenzita |
|--|-----------|
| bez reakce nebo intenzita slabší než cut-off | - |
| stejná intenzita jako cut-off | +- |
| mírně silnější intenzita než cut-off | + |
| silnější intenzita než cut-off | ++ |
| velmi silná intenzita | +++ |

11.3 Výsledky testu

Pro správnou analýzu jsou nevyhnutelné jasné bandy antigenů a nízká interference pozadí. Pokud toto test nespĺňuje, je doporučeno ho opakovat. Pokud na testovacím proužku není žádný band nebo pouze 1 s intenzitou +/-, je test negativní. Více bandů s intenzitou +/- značí hraniční výsledek a vyžaduje další ověření (nový odběr séra).

Pokud jeden band vykazuje vyšší intenzitu než cut-off (+ nebo silnější), je výsledek testu pozitivní.

11.4. Interpretace testu

Některé z anti-jaderných protilátek jsou specifické pro jeden druh onemocnění pojivové tkáně. Protilátky k následujícím auto-antigenům jsou signifikantními serologickými markery vzhledem k onemocněním, které jsou uvedeny níže:

- Rib-P pro SLE
- PCNA pro SLE
- Scl 70 pro Progresivní systémovou sklerodermu
- CENP-B pro CREST-syndrom
- RNP 68 pro MCTD
- Jo-1 pro Myositidu

Všechny ostatní antijaderné protilátky, které jsou detekovatelné ENACHECKem jsou méně specifické s ohledem na různé typy onemocnění pojivových tkání a mohou se vyskytovat u více typů těchto onemocnění. Díky tomu je přesné určení jednotlivého typu onemocnění poněkud obtížnější. Jako pomoc při diagnostice lze použít tabulku 4, kde jsou uvedeny četnosti výskytu jednotlivých autoproti látek v %, která jsou vztažena na jednotlivé typy onemocnění. Srovnání výsledného antigenního profilu s četnostmi výskytu v tabulce 4 umožní rozlišení mezi jednotlivými chorobami.

Nutno brát na vědomí, že odchylky od pracovního postupu mohou vést k nesprávné interpretaci. Předepsané inkubační časy musí být striktně dodržovány.

Pro diagnostikování revmatických autoimunitních onemocnění by měly být brány v úvahu jak klinické výsledky, tak příslušná anamnéza.

Negativní výsledek testu nevylučuje možnost autoimunitního onemocnění.

Tabulka 4: četnost výskytu v %

| | SLE n=226 | SjS n=43 | MCTD n=16 | PSS* n=22 | Myositida (Jo-1 pos.) n=22 | zdravý: dárce krve n=200 | zdravý: problémové sérum** n=401 |
|-----------|--------------|-------------|--------------|--------------|----------------------------------|--------------------------------|---|
| RNP68 | 10 | 0 | 81 | 5 | 0 | 1 | 1 |
| RNPA | 11 | 0 | 69 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RNPC | 16 | 0 | 69 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| SmB | 20 | 0 | 38 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| SmD** | 16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| SSA60 | 20 | 77 | 13 | 5 | 9 | 0 | 0 |
| SSA52 | 32 | 91 | 38 | 9 | 50 | 1 | 2 |
| SSB | 7 | 77 | 0 | 5 | 14 | 1 | 1 |
| Rib-P | 11 | 0 | 0 | 0 | 5 | 2 | 2 |
| PCNA | 0,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CENPB | 1 | 0 | 13 | 95 | 0 | 0 | 0 |
| Scl 70 | 0,5 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 |
| Jo-1 | 1 | 0 | 0 | 5 | 55 | 0 | 0 |
| Histon H1 | 10 | 0 | 19 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| dsDNA*** | 21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |

Určení četností výskytu z následujícího počtu sér: SLE (n=226), SjS (n=43), MCTD (n=16), PSS (n=22), Myositida (n=22), dárce krve (n=200), potenciálně interferující séra (n=401). Potenciálně interferující séra pocházela z ** EBV (n=47), Borrelia (n=42), Yersinia (n=13), těhotné ženy (n=95), další revmatické autoimunitné choroby (Imunovaskulitida, revmatoidní artritida) (n=74), ikterická séra (n=40), hemolytická séra (n=42), lipnická séra (n=48)

* omezená a rozšířená forma PSS

** SmD byl do ENACHECKu IgG zahrnut v 12/2005. Četnost výskytu SmD byla studována zvlášť. Počet studovaných sér: SLE (n=108), SjS (n=4), MCTD (n=3), PSS (n=17), Myositida (n=15), dárce krve (n=100), potenciálně interferující séra (n=50) (10 od těhotných žen, 10 ikterických, 10 hemolytických, 10 lipemických a 10 sér pozitivních na revmatoidní faktor)

*** autoantigen dsDNA byl nově stanoven v 3/07. Četnost výskytu autoprotilátek proti dsDNA byla studována z následujícího počtu sér: SLE (n=117), SjS (n=5), MCTD (n=3), PSS (n=27), Myositida (n=8), dárce krve (n=100), potenciálně interferující séra (n=50) (10 od těhotných žen, 10 ikterických, 10 hemolytických, 10 lipemických a 10 sér pozitivních na revmatoidní faktor)

Tmavé testovací proužky:

Některá séra pacientů mohou vyvolat celkové ztmavnutí nebo zbarvení celého nitrocelulózového proužku (např. u sér pacientů s alergií na mléčné proteiny). Hodnocení těchto proužků je obvykle možné pouze s určitým omezením. Např. inverzní proužky (bílé proužky na tmavém pozadí) jsou hodnoceny jako negativní. Odpovídající sérum by mělo být znovu testováno s použitím jiných sérologických metod.

12. Klinické výsledky

12.1. Přesnost: odvozeno z negativních a problematických sér

| | ENACHECK | | | |
|--|---------------|-----------|--------|-----------|
| | Celkem | negativní | duální | pozitivní |
| dárci krve | 200 | 189 | 10 | 1 |
| potenciálně křížově-reaktivní séra EBV-, borrelií- a Yersinií-infikovaných a těhotných žen | 197 | 174 | 18 | 5 |
| stanovená negativní séra | 17 | 17 | 0 | 0 |
| problematická séra –ikterická, hemolytická a lipemická | 130 | 116 | 10 | 4 |
| Jiná revmatická autoimunitní onemocnění – imunovaskulitida, revmatoidní artritida | 74 | 67 | 4 | 3 |
| Přesnost | | | | |
| zohledněna pouze pozitivní séra | 98 % | | | |
| zohledněny pozitivní a duální výsledky | 91,1 % | | | |

12.2. CDC-séra*

Následující tabulka ukazuje confirmaci autoprotilátek ENACHECKem v 9 sérách, která byla poskytnuta Nadací Artrity a CSC (Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí, Atlanta, USA). Tato séra byla specifikována nepřímou imunofluorescencí.

Další informace jsou k dispozici u ALLDIAG.

| | CDC #1 | CDC #2 | CDC #3 | CDC #4 | CDC #5 | CDC #6 | CDC #7 | CDC #8 | CDC #9 | CDC #10 | CDC #12 |
|-----------|--------|--------|---------------|--------|--------|-----------|--------|-------------|--------|---------|---------|
| CDC* | | SSB | RNP, SSB, SSA | RNP | Sm | Jadérkový | SSA | Centro-mera | Scl70 | Jo-1 | PO |
| RNP68 | - | - | + | + | + | - | - | - | - | - | - |
| RNPA | - | - | - | + | + | - | - | - | - | - | - |
| RNPC | + | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| SmB | + | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| SmD | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - |
| SSA60 | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - |
| SSA52 | - | + | + | - | - | - | + | - | - | + | - |
| SSB | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Rib-P | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + |
| PCNA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| CENPB | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - |
| Scl 70 | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| Jo-1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - |
| histon H1 | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| dsDNA | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

12.3. Citlivost: odvozena z definovaných sér (definovány klinickým obrazem a/nebo specifickými antigenními profily)

| Definované sérum | Počet testů | Pozitivní | negativní |
|-----------------------|-------------|-----------|-----------|
| SLE | 165 | 106 | 64 |
| SjS | 43 | 41 | 95 |
| PSS | 22 | 20 | 91 |
| MCTD | 16 | 16 | 100 |
| Myositida (Jo-1 poz.) | 18 | 12 | 67 |

13. Literatura

1. Tan, E.M. Autoantibodies to Nuclear Antigens (ANA): Their Immunobiology and Medicine. In: *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. N.R. Rose, H.Friedman, J.L. Fahey, Eds. ASM, Wash., DC, 1986. pg 732.
2. Miller, L.E., Ludke, H.R., Peacock, J.E., Tomar, R.H. *Manual of Laboratory Immunology*, 2nd edition. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. pg 344.
3. Wilson, M.R., Nitsche, J.F. Immunodiffusion Assays for Antibodies to Nonhistone Nuclear Antigens. In: *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. N.R. Rose, H.Friedman, J.L. Fahey, Eds. ASM, Wash., DC, 1986. pp. 750-754.
4. Notman, D.D., Kurata, N., and Tan, E.M. Profiles of Antinuclear Antibodies in Systemic Rheumatic Diseases. In: *Annals of Intern. Med.*, 1975. 83: pp 464-469.
5. Tan, E.M. Special Antibodies for the Study of Systemic Lupus Erythematosus. In: *Arthrit. & Rheum.*, 1982. 25(7): pp 753-756.
6. Williams, D.G., Charles, P.J., and Maini, R.N. Preparative Isolation of p67, A,B,B', and D from nRNP/Sm Antigens by Reverse-Phase Chromatography. Use in a Polypeptide-specific ELISA for Independent Quantitation of Anti-nRNP and Anti-Sm Antibodies. In: *J. Immunol. Methods*, 1988. 113: pp 25-35.
7. Maddison, P.J., Skinner, R.P., Vlachoyiannopoulos, P., Brennand, D.M., and Hough, D. Antibodies to nRNP, Sm, Ro (SS-A) and La (SS-B) detected by ELISA: their specificity and interrelations in connective tissue disease sera. In: *Clin. Exp. Immunol.*, 1985. 62: pp 337-345.
8. Venables, P.J.W., Yi, T., Woodrow, D.F., Moss, J., Maini, R.N. Relationship of precipitating antibodies to soluble cellular antigens and histologically defined renal lesions in Systemic Lupus Erythematosus. In: *Annals*

- Rheum. Dis.*, 1983. 42: pp 17-22.
9. Samter, M., Talmage, D.W., Frank, M.M., Austen, K.F., and H.N. Claman. In: *Immunological Diseases*, 4th edition. Toronto: Little, Brown and Co., 1988. pp 1267-68, 1472, 1501-06.
10. Shero, J.H., Brodwell, B., Rothfield, N.F., and W.C. Eamshaw. High titers of antibodies to topoisomerase I (Scl-70) in sera from scleroderma patients. In: *Science*, 1986. 231: pp 737-740.
11. Guldner, H.H., Szostecki, S., Vosberg, H.P., Lakomek, H.J., Penner, E., and F.C. Bantz. Scl-70 autoantibodies from scleroderma patients recognize a 95 kDa protein identified as DNA topoisomerase I. In: *Chromosoma*, 1986. 94: pp 132-138.
12. Douvas, A.S., Achten, M., and E.M. Tan. Identification of a nuclear protein (Scl-70) as a unique target of human antinuclear antibodies in scleroderma. In: *J. Biol. Chem.*, 1979. 254: pp 10514-10522.
13. Samter, M., Talmage, D.W., Frank, M.M., Austen, K.F., and H.N. Claman *Immunological Diseases*, 4th edition. Toronto: Little, Brown and Co., 1988. pp 1437-57.
14. Fonong, T., Evans, S.M., and H.A. Homburger. Development and comparative evaluation of immunoblot assays for detecting autoantibodies to Scl-70 and Jo-1 antigens in serum. In: *Clinical Chemistry*, 1990. Vol. 36, 12: pp 2053-2056.
15. Tan, E.M. Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. In: *Advances in Immunology*, 1989. Academic Press. 44: pp 93-151.
16. Hardin, J.A. The lupus autoantigens and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. In: *Arthritis & Rheum.*, 1986. 29: pp 457-460.
17. Nakamura, R.M., Peebles, C.L., Rubin, R.L., Molden, D.P., Tan, E.M. Autoantibodies to Nuclear Antigens (ANA), 2nd edition. ASCP, Chicago, 1985.

14. Kontakty na dodavatele:

LABOSERV s.r.o.

Hudcova 532/78 b, 612 00 Brno, Česká republika

T: + 420 541 243 113, F: + 420 541 243 114, M: + 420 737 245 070

email: laboserv@laboserv.cz , <http://www.laboserv.cz>