

Kód 44510	48 testů	Kód 44514	96 testů	PROTILÁTKY PROTI MITOCHONDRIÍM (AMA) Krysí ledviny
Kód 44511	12x4 testů	Kód 44515	12x8 testů	
Skladovat při 2 - 8°C				
Reagentie pro kvalitativní stanovení protilátek proti mitochondriím. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.				

PRINCIP METODY

Anti-mitochondriální protilátky (AMA) přítomné v séru se vážou na odpovídající antigeny přítomné v řezu krysích ledvin. K vizualizaci komplexu antigen-protilátka je použito sérum s anti-human imunoglobulinem značeným fluoresceinem. Vyhodnocení se provádí imunofluorescenčním mikroskopem¹.

OBSAH

	KÓD 44510	KÓD 44514
A. Sklíčka	12 x 4 testů	12 x 8 testů
B. PBS (10x)	1 x 100 mL	1 x 100 mL
C+ AMA Pozitivní kontrola	1 x 0,3 mL	2 x 0,3 mL
C- Negativní kontrola	1 x 0,3 mL	2 x 0,3 mL
D. FITC/Evans (R)	1 x 3,5 mL	2 x 3,5 mL
E. Montovací medium	1 x 3 mL	1 x 3 mL
F. Vysoušecí papír	1 x 12	1 x 12
	KÓD 44511	KÓD 44515
A. Sklíčka	12 x 4 testů	12x8 testů

SLOŽENÍ

- A. Sklíčka:** Krysí ledvinové řezy (RK-AMA) v každé jamce.
- B. PBS (10x):** 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.
- C+ AMA Pozitivní kontrola:** Lidské sérum obsahující anti-mitochondriální protilátky (AMA), azid sodný 0,95 g/L.
- C- Negativní kontrola:** Lidské sérum, azid sodný 0,95 g/L.
- D. FITC/Evans (R):** Kozí anti-human imunoglobulin konjugovaný s fluorescein isothiokyanátem (FITC) navázaným na krysí sérum, Evansova modř 0,01 g/L, azid sodný 0,95 g/L.
- E. Montovací medium:** Mowiol 12%, Glycerol 30%, Tris 20 mmol/L, azid sodný 0,95 g/L.
- F. Odsávací papír.**
Lidská séra použitá při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a sledována negativní na přítomnost protilátek anti-HIV a anti-HCV, a stejně tak na HBs antigen. Nicméně zacházejte s kontrolami jako s potencionálně infekčním materiálem.

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:
 Kapalné komponenty: Přítomnost částic, zákal
 Sklíčka: natržení sáčku, makroskopické defekty na buněčných kulturách, jako je poškrábání nebo sloupnutí.

POMOCNÉ REAGENCIE

- Pro kódy 44510 a 44514 není třeba dalších reagentů.
 - Pro kódy 44511 a 44515 je třeba objednat následující reagenty:
- B. PBS (10x)** (kód 44592)
D. FITC/Evans(R) - kód 44590, krysí konjugát s Evansovou modří.
E. Montovací medium (kód 44694)
C+ AMA Pozitivní kontrola (kód 44512)
C- Negativní kontrola (kód 44696)

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

PBS: Naředte reagentii B destilovanou vodou v poměru 1/10. Stabilní 1 měsíc při 2-8 ° C, pokud byly dodrženy při skladování doporučené teploty, reagent byl dobře uzavřen a nedošlo ke kontaminaci během jeho používání. Všechny ostatní reagentie jsou dodávány připravené k přímému použití.

PŘIDAVNÁ 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 1/10 v PBS (Viz příprava reagentie). K titraci pozitivních vzorků ředte dvojkovou řadou v PBS, přičemž začnete ředěním 1/10.

PRACOVNÍ POSTUP


1. Vytemperujte reagentie a vzorky na pokojovou teplotu.
2. Kápněte 1 kapku (50 µL) naředěného vzorku, nebo kontroly do každé jamky s tkáňovým řezem (A). Ujistěte se, že řez je kompletně pokrytý. (Poznámka 1).
3. Inkubujte sklíčka 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
4. Nakloňte sklíčko a opatrným poklepáváním o filtrační papír odstraňte přebytečné kapky vzorku. Zabraňte zkřížené kontaminaci.
5. Opláchněte krátce v lehkém proudu PBS (viz příprava reagentie) (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 reagentie 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 reagentie E a opatrně přikryjte krycím sklíčkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČTÁNÍ

Sklíčka vyhodnocujte s použitím fluorescenčního mikroskopu (zvětšení 250-400x). Pro lepší výsledky sklíčka vyhodnocujte okamžitě. Pro odečet zvolte vnitřní část tkáňového řezu, intenzita fluorescence v okrajích není charakteristická.
 Séra vykazující granulární fluorescenci mitochondrií v cytoplasmě tubulárních buněk ledvin by měla být hodnocena jako pozitivní. Pozitivní séra lze titrovat. Titr séra je definován jako nejvyšší zředění dávající pozitivní výsledek. Není-li pozorována žádná typická fluorescence, výsledek je pro tyto protilátky negativní.

KONTROLA KVALITY

Pozitivní kontrola (C+) a negativní kontrola (C-) zakoupená se soupravou kód 44510 nebo 44514 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, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

Kód 44510	48 testů	Kód 44514	96 testů	PROTILÁTKY PROTI MITOCHONDRIÍM (AMA)	
Kód 44511	12x4 testů	Kód 44515	12x8 testů		
Skladovat při 2 - 8°C					
Reagentie pro kvalitativní stanovení protilátek proti mitochondriím. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.				Krysí 	ledviny

CHARAKTERISTIKA TESTU

Konjugát FITC/Evans(R) je kalibrován proti Mezinárodnímu standardu WHO pro ovčí anti-human imunoglobuliny konjugované s FITC.

Specifita AMA Pozitivní kontroly byla ověřena proti vnitřnímu referenčnímu séru.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Přítomnost anti-mitochondriálních protilátek je spojena s primární biliární cirhózou (u více než 95% pacientů)^{2,3}.

BioSystems anti-mitochondriální protilátky byly použity nejen při testování 95 sér pacientů s různými autoimunitními onemocněními, ale i zdravých dárců. Výsledky jsou popsány níže:

Onemocnění	n	Poz	Neg
Jaterní onemocnění	46	41	5
Primární biliární cirhosa	24	22	2
Colangitida	10	8	2
Autoimunitní hepatitida	12	11	1
Ostatní Autoimunitní onemocnění	25	0	25
Megaloblastická anemie	3	0	3
Buněčné onemocnění	7	0	7
Thyroiditida	9	0	9
Good Pasture syndrom	2	0	2
Ostatní (vasculitida, AFL)	4	0	4
Zdraví dárce	24	0	24

Klinická diagnóza by neměla být uzavřena jen na základě výsledků jednoho testování, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní údaje.

POZNÁMKA

- Nedotýkejte se tkáňových řezů v jamkách během zkoušky.
- Použijte stříčku, nebo pipetu na promytí. Zabraňte zkřížené kontaminaci mezi vzorky.

LITERATURA

- Melnicoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. En: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
- Leung PSC et al. Mitochondrial Autoantibodies. In: James B. Peter a Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.
- MacKay IR, a Gershwin ME. The autoantibodies of primary biliary cirrhosis: clinico pathological correlations. In: Van Venrooij WJ a Maini RN eds. Manual of Biological Markers of Diseases. Kluwer Academic Publishers, 1996.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 29.8.2019

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.es

Český návod je k dispozici na: www.jktrading.cz

M44510i-23

BioSystems S.A. Costa Brava, 30. 08030 Barcelona (Spain)

Quality System certified according to
EN ISO 13485 and EN ISO 9001 standards

český překlad 08/2016/VE