


PROTILÁTKY PROTI PŘÍČNĚ PRUHOVANÝM SVALŮM (AStMA)

Kód 44649 12 x 4 testů	 PROTILÁTKY PROTI PŘÍČNĚ PRUHOVANÝM SVALŮM (AStMA) Krysí příčně pruhované svaly
Skladovat při 2 - 8°C	
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek proti příčně pruhovaným svalům. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.	

PRINCIP METODY

Protílátky proti příčně pruhovaným svalům (AStMA) přítomné v séru se vážou na odpovídající antigeny přítomné v řezu kryšního svalu. K vizualizaci komplexu antigen-protílátka je použito sérum s anti-human imunoglobulinem G značeným fluoresceinem. Vyhodnocení se provádí imunofluorescenčním mikroskopem¹.

OBSAH

KÓD 44649	
A.	Skříčka 12 x 4 testů

SLOŽENÍ

Skříčka: Řez kryším příčně pruhovaným svalem v každé jamce.

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2-8°C.

Reagenty jsou stabilní do data expirace uvedené na štítku, jestliže jsou skladovány uzavřené a je zabráněno jejich kontaminaci.

Známky zhoršení kvality:

- Kapalně komponenty: Přítomnost částic, zákal
- Skříčka: natržení sáčku, makroskopické defekty na tkáňovém řezu, jako je poškrábání nebo sloupnutí.

POMOCNÉ REAGENCIE

- 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+. AStMA Pozitivní kontrola:** lidské sérum obsahující protílátky proti příčně pruhovanému svalu (AStMA), azid sodný 0,95 g/l.
- C-. Negativní kontrola:** Lidské sérum, azid sodný 0,95 g/L.
- D. IgG FITC/Evans:** kat.č. 44 697. Kozí anti-human imunoglobulin IgG konjugovaný s fluorescein isothiokyanátem (FITC), 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 shledána negativní na přítomnost protilátek anti-HIV a anti-HCV, a stejně tak na HBs antigen. Nicméně zacházejte s kontrolami jako s potencionálně infekčním materiálem.

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.

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- Zvlhčovací komůrka
- Promývací nádoba
- Krycí skříčka 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. Stabilní po dobu 1 týdne při 2-8°C.

Sérum zředte 1/10 v PBS (Viz. příprava reagentu). 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 skříčka 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
4. Nakloňte skříčka a opatrným poklepáváním o filtrační papír odstraňte přebytečné kapky vzorku. Zabraňte zkřížené kontaminaci mezi séry.
5. Skříčka opláchněte krátce v lehkém proudu PBS (viz. příprava reagentu) (Poznámka 2).
6. Skříčka pořádně promyjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.
7. Opatrně skříčka osušte s použitím speciálního odsávacího papíru. Jamky nevysušujte, musí zůstat vlhké po celou dobu procedury.
8. Do každé jamky přidejte 1 kapku reagentie D. Skříčka inkubuje 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 skříčkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČÍTÁNÍ

Skříčka vyhodnocuje s použitím fluorescenčního mikroskopu (zvětšení 250-400x). Pro lepší výsledky skříčka vyhodnocuje okamžitě. Pro odečet zvolte vnitřní část tkáňového řezu, intenzita fluorescence v okrajích není charakteristická. Séra vykazující fluorescenci svalových vrstev společně se svalovými vlákny by měla být zředěna před tím, než se vyhodnotí jako pozitivní. Pozitivní séra lze titrovat. Titr séra je definován jako nejvyšší zředění dávající pozitivní výsledek. Není-li pozorována žádná typická fluorescence, výsledek je negativní pro tyto protílátky.

KONTROLA KVALITY

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

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

Negativní kontrola (C-) by neměla dávat žádný specifický obraz. Každá laboratoř by si měla stanovit svojí vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

CHARAKTERISTIKA TESTU


IgG konjugát FITC/Evans je kalibrován proti WHO Mezinárodnímu standardu pro FITC značený ovčí anti-human imunoglobulin. Specifita AStMA Pozitivní kontroly byla ověřena proti internímu referenčnímu séru.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Protílátky proti příčně pruhovanému svalu reagují s antigeny lokalizovanými ve svalových vláknech v pozici I, A a Z, které působí jako kontraktilní elementy kosterního svalstva. Jejich přítomnost byla zjištěna u 30-60% pacientů s myasthenia gravis. Frekvence těchto protilátek u myasthenia gravis pacientů s onemocněním brzlíku (nádorem) může dosáhnout až 80-100%. V závislosti průběhu onemocnění se studie stává cenným sérologickým markerem thymu u pacientů s myasthenia gravis. Tyto protílátky reagují hlavně s intracelulárním kosterním proteinem Titinem (lineární fibrilární protein) a ryanodinovým receptorem^{2,3,4,5}.

PROTILÁTKY PROTI PŘÍČNĚ PRUHOVANÝM SVALŮM (AStMA)

Kód 44649 12 x 4 testů	PROTILÁTKY PROTI PŘÍČNĚ PRUHOVANÝM SVALŮM (AStMA) Krysí příčně pruhované svaly
Skladovat při 2 - 8°C	
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek proti příčně pruhovaným svalům. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.	



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

POZNÁMKA

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

LITERATURA

1. Melnicoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. En: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Juel VC and Massey JM. Myasthenia gravis. Orphanet Journal of Rare Diseases 2007;2-44:1-13
3. Yamamoto AM, Gajdos P, Eymard B, Tranchant C, Warter JM, Gomez L, Bourquin C, Bach JF, Garchon H-J. Anti-Titin Antibodies in Myasthenia Gravis. Arch Neurol. 2001;58:885-890.
4. Cikes N, Momoi MY, Williams CL, Howard FM Jr, Hoagland HC, Whittingham S, Lennon VA. Striational autoantibodies: quantitative detection by enzyme immunoassay in myasthenia gravis, thymoma, and recipients of D-penicillamine or allogeneic bone marrow. Mayo Clin Proc. 1988 May;63(5):474-81.
5. Romi F, Skeie GO, Gilhus NE, Aarli JA. Striational Antibodies in Myasthenia Gravis. Arch Neurol. 2005;62(3):442-446

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

Výhradní distributor:

ČR : JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5, 150 21 Praha5, tel.: +420 257 220 760

SK : JK-Trading spol.s.r.o., Mečíkova 30, 841 07 Bratislava, tel.: +421 264 774 591

V případě mimořádných událostí:

ČR : Toxikologické informační středisko (TIS), klinika pracovního lékařství VFN a . LF UK,

tel.: +420 224 91 92 93 a +420 224 91 54 02

SK : Toxikologické informačné centrum Bratislava, 833 05, Limbová 5, tel.: +421 254 774 166