

PROTILÁTKY PROTI GLOMERULÁRNÍ BAZÁLNÍ MEMBRÁNĚ (GBMA)

Kód 44588	12 x 4 testy
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C	
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek glomerulární bazální membrány Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích	

PROTILÁTKY PROTI GLOMERULÁRNÍ BAZÁLNÍ MEMBRÁNĚ (GBMA)



Nepřímá imunofluorescence
Opičí ledviny

PRINCIP METODY

Sérové protilátky proti glomerulární bazální membráně (GBMA) se vážou na odpovídající antigen přítomný v řezu opičích ledvin po indukované expozici kryptických epitopů. Komplexy antigen-protilátka jsou detekovány pomocí fluoresceinem značeného anti-humánního imunoglobulinu a vizualizovány pomocí fluorescenčního mikroskopu¹.

OBSAH

KÓD 44588

A.	Skříčka	12 x 4 testy
----	---------	--------------

SLOŽENÍ

A. **Skříčka:** Řezy opičích ledvin v každé jamce.

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2-8 °C.

Reagencie jsou stabilní do data expirace uvedené na štítku, jestliže jsou skladovány uzavřené a je zabráněno jejich kontaminaci v průběhu jejich používání.

Známky zhoršení kvality:

- Kapalně reagencie: přítomnost částic, zákal
- Skříčka: natržení sáčku, makroskopické defekty na tkáňových řezech, jako je poškrábání nebo sloupnutí tkáně.

POMOCNÉ REAGENCIE

• Pro úplnou soupravu kat.č. 44588 je třeba objednat následující reagencie:

- B. PBS (10x):** Fosforečnan sodný, fosforečnan draselný, chlorid sodný, azid sodný 0,95 g/L, pH 7,2. (kód 44592).
- D. IgG FITC/Evans (M):** Anti-human IgG konjugovaný s fluorescein isothiokyanátem (FITC) a adsorbovaný s opičím sérem, Evansova modř 0,01 g/L, azid sodný 0,95 g/L. (kód 44 847).
- E. Montovací medium:** Mowiol, Glycerol, Tris, azid sodný 0,95 g/l (kód 44 694).
- H. Glycin** 0,1mol/l, pH2,2 (kód 44846).
- C+. GBMA Pozitivní kontrola:** Lidské sérum obsahující protilátky proti glomerulární bazální membráně, azid sodný 0,95 g/L. (kód 44678).
- C-. Negativní kontrola:** Lidské sérum, azid sodný 0,95 g/L. (kód 44 696).

Lidská séra použitá při přípravě pozitivní a negativní kontroly byla testována a shledána negativními na přítomnost protilátek anti-HIV a anti-HCV, a stejně tak na HBs antigen. Nicméně zacházejte s kontrolami jako s potenciálně infekčním materiálem.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

PBS: Naředte reagenci B destilovanou vodou v poměru 1/10. Stabilní 1 měsíc při 2-8 °C, pokud byly dodrženy při skladování doporučené teploty, reagencie byla dobře uzavřena a nedošlo ke kontaminaci

během jejího používání. Všechny ostatní reagencie jsou dodávány připravené k přímému použití.

DOPLŇUJÍCÍ VYBAVENÍ

- Zvlhčovací komůrka
- Promývací nádoba
- Krycí skříčka 24 x 60 mm
- Fluorescenční mikroskop s excitačním filtrem 495 nm a 525nm emisním filtrem pro FITC vizualizaci.

VZORKY

Sérum nebo plazma odebraná standardním postupem. Stabilní po dobu 1 týdne při 2-8 °C.

Před testováním zředte sérum 1/30 v PBS (Viz. příprava reagencie). K titraci pozitivních vzorků ředte dvojkovou řadou v PBS, přičemž začnete od 1/30.

PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte reagencie a vzorky na pokojovou teplotu.
2. Kápněte 1 kapku (50 µL) reagencie H do každé jamky. Ujistěte se, že je jamka kompletně pokrytá. (Poznámka 1).
3. Inkubujte skříčku 30 minut při pokojové teplotě (15-30 °C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
4. Skříčka důkladně promýjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.
5. Opatrně skříčko osušte s použitím speciálního absorpčního papíru. Jamky nevysušujte, musí zůstat vlhké po celou dobu procedury.
6. Do každé jamky přidejte 1 kapku (50 µL) zředěného vzorku, nebo kontroly. Ujistěte se, že je jamka kompletně pokrytá. (Pozn. 1).
7. Skříčka inkubujte podle bodu 3.
8. Vysušte skříčko opatrným nakloněním a poklepáváním o filtrační papír. Zabraňte zkřížené kontaminaci mezi vzorky.
9. Opláchněte krátce v lehkém proudě PBS (viz. příprava reagentu) (Pozn. 2).
10. Promýjte podle bodu 4 a osušte podle bodu 5.
11. Přidejte do každé jamky 1 kapku reagencie D a inkubujte skříčko 30 minut při pokojové teplotě (15-30 °C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
12. Promýjte podle bodu 4 a osušte podle bodu 5.
13. Přidejte do každé jamky několik kapek reagencie E a opatrně přikryjte krycím sklíčkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČÍTÁNÍ

Skříčka vyhodnocuje fluorescenčním mikroskopem (zvětšení 250-400 x). Pro lepší výsledky skříčka vyhodnocuje okamžitě. Pro odečet zvolte vnitřní část tkáňového řezu. Intenzita fluorescence v okrajích není charakteristická.

Séra vykazující jemné, lineární zbarvení bazální membrány v renálních glomerulech při doporučeném ředění by měly být považovány za pozitivní. Pozitivní séra lze titrovat. Není-li pozorována žádná typická fluorescence, výsledek je pro tyto protilátky negativní.

KONTROLA KVALITY

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

PROTILÁTKY PROTI GLOMERULÁRNÍ BAZÁLNÍ MEMBRÁNĚ (GBMA)

Kód 44588	12 x 4 testy	PROTILÁTKY PROTI GLOMERULÁRNÍ BAZÁLNÍ MEMBRÁNĚ (GBMA)	CE	Nepřímá imunofluorescence Opičí ledviny
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C				
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek glomerulární bazální membrány Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích				

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 svojí vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, když kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

CHARAKTERISTIKA TESTU

- Konjugát IgG FITC/Evans(M) je hodnocen podle mezinárodního standardu WHO pro ovčí anti-lidský imunoglobulin značený FITC.
- Výsledky získané soupravou BioSystems GBMA ve srovnávací studii nevykazovaly systematické rozdíly při porovnání s ELISA testem anti-IV kolagenu protilátek řetězce alfa3. Podrobnosti o porovnávací zkoušce jsou k dispozici na vyžádání.
- Specifita pozitivní kontroly GBMA byla ověřena proti vnitřnímu referenčnímu séru.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Nepřímá imunofluorescence je konvenční metodou pro zjišťování protilátek proti glomerulární bazální membráně (GBMA).

Protilátky proti glomerulární bazální membráně jsou přítomny u pacientů s Goodpastureovým syndromem. Onemocnění představuje progresivní glomerulonefritidu s masivním plicním krvácením nebo bez něj. Nález GBMA potvrzuje diagnózu život ohrožujícího onemocnění, které způsobuje ztrátu ledviny, a naznačuje vážnou prognózu^{2,3}.

Souprava BioSystems na zjištění protilátek proti glomerulární bazální membráně byla testována na 106 sérech pacientů s Goodpastureovým syndromem a na zdravých jedincích. Výsledky jsou popsány v tabulce. Citlivost a specifita byla 100 %.

		BioSystems GBMA	
Pacienti	n	pozitivní	negativní
Goodpastureův syndrom	28	28	0
Zdraví jedinci	78	0	78

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

POZNÁMKY

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

LITERATURA

1. Melnickoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. In: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Hellmark T, Segelmark M and Wieslander J. Anti-GBM antibodies in Goodpasture syndrome; anatomy of an epitope. Nephrol Dial Transplant (1997) 12: 646-648.
3. Hellmark T, Segelmark M, Bygren P and Wieslander J. Glomerular basement membrane antibodies. In: James B. Peter and Yehuda Shoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 11.4. 2025

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí.

Originální návod, LOT certifikát a bezpečnostní listy jsou k dispozici na internetové adrese: <https://einfo.bio> a na: www.jktrading.cz

Výhradní distributor:

ČR: JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5, 150 21 Praha 5,

tel.: +420 257 220 760, paha@jktrading.cz

SK: JK-Trading spol.s.r.o., Dlhá 43, 900 31 Stupava,

tel.: + 421 264 774 591, jk-trading@jk-trading.sk

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