

PROTILÁTKY PROTI PŘÍČNĚ PRUHOVANÝM SVALŮM (AStMA)

Kód 44649	12 x 4 testy	PROTILÁTKY PROTI PŘÍČNĚ PRUHOVANÝM SVALŮM (AStMA)  Krysí příčně pruhované svaly
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C		
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek proti příčně pruhovanému svalstvu Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.		

PRINCIP METODY

Protilátky proti příčně pruhovaným svalům (AStMA) přítomné v séru se vážou na odpovídající antigeny přítomné v řezu krysího svalu. Výsledné komplexy antigen-protilátka jsou detekovány pomocí fluorescein značeného anti-lidského imunoglobulinu G a vizualizovány pomocí fluorescenčního mikroskopu¹.

OBSAH

KÓD 44649

A.	Sklička	12 x 4 testů
----	---------	--------------

SLOŽENÍ

Sklička: Řez krysím příčně pruhovaným svaem 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.

Známky zhoršení kvality:

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

POMOCNÉ REAGENCIE

- B. PBS (10x):** (kód 44592). Fosforečnan sodný, fosforečnan draselný, chlorid sodný, azid sodný 0,95 g/L, pH 7,2.
- C+. AStMA Pozitivní kontrola:** (kód 44883). Lidské sérum obsahující protilátky proti příčně pruhovanému svalu (AStMA), azid sodný 0,95 g/L.
- C-. Negativní kontrola:** (kód 44696). Lidské sérum, azid sodný 0,95 g/L.
- D. IgG FITC/Evans:** (kód 44697). Kozí anti-human imunoglobulin IgG konjugovaný s fluorescein isothiokyanátem (FITC), Evansova modř 0,01 g/L, azid sodný 0,95 g/L. Případně směsný konjugát (IgA, IgG, IgM – kód 44590).
- E. Montovací médium:** Mowiol, Glycerol, Tris, azid sodný 0,95 g/L (kód 44694).
- F. Absorpční 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 reagent B destilovanou vodou v poměru 1/10. Stabilní 1 měsíc při 2-8 °C, pokud byly dodrženy při skladování doporučené teploty, reagentie byla dobře uzavřena a nedošlo ke kontaminaci během používání. Všechny ostatní reagentie jsou dodávány připravené k přímému použití.

DOPLŇUJÍCÍ VYBAVENÍ

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

ODEČÍTÁNÍ

Sklička vyhodnocujte s použitím fluorescenčního mikroskopu (zvětšení 250-400 x). Pro lepší výsledky sklička vyhodnocujte 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 protilátky.

KONTROLA KVALITY

Pozitivní kontrola (C+) a Negativní kontrola (C-) by měly být testovány společně se vzorky pacientů, aby se ověřila účinnost testu. 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, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

CHARAKTERISTIKA TESTU

Konjugát FITC/Evans je hodnocen podle mezinárodního standardu WHO pro ovčí anti-lidský IgG značený FITC.

Specifita AStMA Pozitivní kontroly byla ověřena proti internímu referenčnímu séru.

PROTILÁTKY PROTI PŘÍČNĚ PRUHOVANÝM SVALŮM (AStMA)

Kód 44649 12 x 4 testy		PROTILÁTKY PROTI PŘÍČNĚ PRUHOVANÝM SVALŮM (AStMA) Kysí příčně pruhované svaly
SKLADOVAT PŘI 2-8 °C		
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek proti příčně pruhovanému svalstvu Pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku v klinických laboratořích.		

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Protilátky proti příčně pruhovanému svalu reagují proti antigenům lokalizovaným ve svalových vláknech v pozici I, A a Z, které působí jako kontraktilní elementy kosterního svalstva. Jejich přítomnost byla popsána u 30-60 % pacientů s myasthenia gravis. Frekvence těchto protilátek u pacientů s myasthenia gravis trpících thymomem (nádorem brzlíku) může v závislosti na studii dosáhnout až 80-100 %, čímž se stává cenným sérologickým markerem thymu u pacientů s myasthenia gravis. Tyto protilátky reagují hlavně s intracelulárním proteinem kosterního svalstva titinem a ryanodinovým receptorem^{2,3,4,5}.

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. 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 quantitative detection 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: 14.4. 2025

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme přezkontrolovat 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