



ANTI-MITOCHONDRIÁLNÍ PROTILÁTKY (AMA)



KÓD 44510 48 testů	KÓD 44514 96 testů
KÓD 44511 12 x	KÓD 44515 12 x
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagenty pro kvalitativní stanovení anti-mitochondriálních protilátek Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> diagnostiku	

ANTI-MITOCHONDRIÁLNÍ PROTILÁTKY (AMA)

Nepřímá imunofluorescence
KRYSÍ LEDVINY

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 jamky	12 x 8 jamek
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 jamky	12 x 8 jamek

SLOŽENÍ

Sklička: 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 negativně na přítomnost protilátek anti-HIV a anti-HCV, a stejně tak na HBs antigen. Nicméně zacházejte s kontrolami jako s potenciálně infekčním materiálem.

SKLADOVÁNÍ

Składujte 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

Sklička: 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 reagent B 1/10 destilovanou vodou. Stabilita 1 týden při 2-8°C

Ostatní reagenty jsou ready to use.

PŘIDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- 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. Stabilita 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

- Vytemperujte reagenty a vzorky na pokojovou teplotu.
- 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).
- Inkubujte sklička 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
- Nakloňte skličko a opatrným poklepáváním o filtrační papír odstraňte přebytečné kapky vzorku. Zabraňte cross-kontaminaci.
- Opláchněte krátce v lehkém proudu PBS (viz. příprava reagentu) (Pozn. 2).
- Sklička důkladně promyjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.
- Opatrně skličko osušte s použitím speciálního odsávacího papíru. Jamky nevysušujte, musí zůstat vlhké po celou dobu procedury.
- Do každé jamky přidejte 1 kapku reagentu D. Sklička inkubujte po dobu 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) ve zvlhčovací komůrce.
- Promyjte podle bodu 6 a osušte podle bodu 7.
- Přidejte do každé jamky několik kapek reagentu E a opatrně přikryjte krycím skličkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČÍTÁNÍ

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

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.

CHARAKTERISTIKA TESTU

Konjugát FITC/Evans(R) je kalibrován proti WHO Mezinárodnímu standardu pro FITC značený ovčí anti-human imunoglobulin.

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:



ANTI-MITOCHONDRIÁLNÍ PROTILÁTKY (AMA)



KÓD 44510 48 testů	KÓD 44514 96 testů
KÓD 44511 12 x	KÓD 44515 12 x
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C	
Reagenty pro kvalitativní stanovení anti-mitochondriálních protilátek Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> diagnostiku	

ANTI-MITOCHONDRIÁLNÍ PROTILÁTKY (AMA)

Nepřímá imunofluorescence
KRYŠÍ LEDVINY

<i>Onemocnění</i>	<i>n</i>	<i>Pozitivní</i>	<i>Negativní</i>
<i>Jaterní onemocnění</i>	46	41	5
Primární biliární cirhosa	24	22	2
Colangitida	10	8	2
Autoimunitní hepatitida	12	11	1
<i>Ostatní Autoimunitní onemocnění</i>	25	0	25
Megaloblastická anaemie	3	0	3
<i>Buněčné onemocnění</i>	7	0	7
Thyroiditida	9	0	9
Good Pasture syndrom	2	0	2
<i>Ostatní (vasculitida, AFL)</i>	4	0	4
<i>Zdraví dárci</i>	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

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

LITERATURA

1. Melnickoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. En: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. Leung PSC et al. Mitochondrial Autoantibodies. In: James B. Peter a Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.
3. 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: 2.07.2014.

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme přezkontrolovat 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-sa.com.

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

Výhradní distributor:

ČR: JK-Trading s r.o., Za Opravnou 5, Praha 5, 155 00

SK: JK-Trading s r.o., Mečíkova 30, Bratislava, 841 07

VÝROBCE

BioSystems S.A. Costa Brava 30, Barcelona (Spain)
ISO 13485 - TÜV Rheinland - Reg.: SX 60010383 0001
ISO 9001 - TÜV CERT - Reg.: 01 100 6696