

# PROTILÁTKY PROTI GLOMERULÁRNÍ BAZÁLNÍ MEMBRÁNĚ (GBMA)

Kód 44588 12x4 testů	<b>PROTILÁTKY PROTI GLOMERULÁRNÍ BAZÁLNÍ MEMBRÁNĚ (GBMA)</b>
Skladovat při 2 - 8°C	
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek proti glomerulární bazální membráně. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.	

**CE** Nepřímá imunofluorescence  
Opičí ledviny

## PRINCIP METODY

Anti-glomerulární bazální membránové protilátky (GBMA) v séru se naváží na odpovídající antigeny přítomny v opičích ledvinových preparátech po indukované expozici kryptických epitopů. Komplexy antigen-protilátka se detekují fluoresceinem značeným anti-humánním imunoglobulinem a vizualizují se pomocí fluorescenčního mikroskopu<sup>1</sup>.

## OBSAH

KÓD 44588

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

## SLOŽENÍ

**A. Sklička:** 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:

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

## POMOCNÉ REAGENTY

- **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 44 692)
- D. IgG FITC/Evans (M):** Anti-human IgG konjugovaný s fluorescein isothiocyanátem (FITC) a adsorbovaný s opičím sérem, Evansova modř 0,01 g/L, azid sodný 0,95 g/L. (kód 44 596)
- E. Montovací medium:** Mowiol, Glycerol, Tris, azid sodný 0,95 g/l (kód 44 694)
- H.** Glycin 0,1mol/l, pH2,2
- C+ GBMA Pozitivní kontrola:** Lidské sérum obsahující protilátky proti glomerulární bazální membráně, azid sodný 0,95 g/L.
- C-. Negativní kontrola:** Lidské sérum, azid sodný 0,95 g/L. (kód 44 696)

*Lidská séra použita 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 PBS:** Naředte reagencii 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 reagencie jsou dodávány připravené k přímému použití.

## PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- Zvlhčovací komůrka
- Promývací nádoba
- Krycí sklička 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 sklička 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
4. Sklička důkladně promyjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.
5. Opatrně skličko osušte s použitím speciálního odsávacího 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. Sklička inkubujte podle bodu 3.
8. Vysušte skličko opatrným nakloněním a poklepáním o filtrační papír. Zabraňte zkřížené kontaminaci mezi vzorky.
9. Opláchněte krátce v lehkém proudu PBS (viz. příprava reagentu) (Pozn. 2).
10. Promyjte podle bodu 4 a osušte podle bodu 5.
11. Přidejte do každé jamky 1 kapku reagencie D a inkubujte skličko 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
12. Promyjte podle bodu 4 a osušte podle bodu 5.
13. Přidejte do každé jamky několik kapek reagencie E a opatrně přikryjte krycím skličkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

## ODEČÍTÁNÍ

Sklička vyhodnocujte fluorescenčním mikroskopem (zvětšení 250-400x). Pro lepší výsledky sklička vyhodnocujte 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. 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 svůj vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, když kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

# PROTILÁTKY PROTI GLOMERULÁRNÍ BAZÁLNÍ MEMBRÁNĚ (GBMA)

Kód 44588      12x4 testů	<b>PROTILÁTKY PROTI GLOMERULÁRNÍ BAZÁLNÍ MEMBRÁNĚ (GBMA)</b>	
Skladovat při 2 - 8°C		
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek proti glomerulární bazální membráně. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.		
	<b>CE</b>	Nepřímá imunofluorescence Opičí ledviny

## CHARAKTERISTIKA TESTU

FITC/Evans(M) je kalibrován proti WHO mezinárodnímu standardu pro FITC značený ovčí anti-human imunoglobulin. 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 Goodpasturovým syndromem. Onemocnění se vyskytuje současně s progresivní glomerulonefritidou s anebo bez masivního pulmonárního krvácení. Nález GBMA potvrzuje diagnózu celoživotního hrozivého onemocnění, který způsobí ztrátu ledviny a indikuje vážnou prognózu<sup>2,3</sup>. Souprava BioSystems na zjištění protilátek proti glomerulární bazální membráně byla testována na 106 sérech pacientů s Goodpasturovým syndromem a na zdravých jedincích. Výsledky jsou popsány v tabulce. Citlivost a specifita byla 100%.

Pacienti	n	BioSystems GBMA	
		pozitivní	negativní
Goodpasture 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.

## 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. 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: 27.12.2021.  
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](http://www.biosystems.es).

Český návod je k dispozici na: [www.jktrading.cz](http://www.jktrading.cz)

## Výhradní distributor:

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

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