

MASTAFLUOR™ SKMA

Objektträger beschichtet mit Gewebeschnitten der Rattenoberschenkelmuskulatur

Slides coated with rat thigh muscle tissue sections

Gebrauchsinformation / Instructions for Use / Notice Technique



Nur zur *in-vitro* Diagnostik / For *in vitro* diagnostic use only /
Usage *in vitro* uniquement



Deutsch: Seiten 02–03



English: Pages 04–05

MASTAFLUOR™ SKMA

REF 616175

10 x 5 Tests

Hersteller / Manufactured by:
Fabriqué par:

MAST DIAGNOSTICA
Laboratoriumspräparate GmbH
Feldstraße 20, D-23858 Reinfeld
Deutschland
Tel.: +49 4533 2007-0
Fax: +49 4533 2007-68
www.mastgrp.com
mast@mast-diagnostica.de

Distributed by:

MAST GROUP Ltd.
MAST House, Derby Road, Bootle
UK-Mersey Side L20 1EA
Great Britain
Phone: +44 151 933 7277
Fax: +44 151 944 1332
www.mastgrp.com
sales@mastgrp.com

Distribué par:

MAST DIAGNOSTIC
115, Rue Jules Barni
80000 Amiens
France
Tél.: + 33 3 22 80 80 67
Fax: + 33 3 22 80 99 22
www.mastgrp.com
service-commercial@mast-diagnostic.fr

Verwendungszweck

MASTAFLUOR™ SKMA Objektträger für Immunfluoreszenztests dienen dem Nachweis von Antikörpern gegen Skelettmuskellantigene.

Packungsinhalt

Inhalt	50 Tests	Spezifikation
Objektträger	10 x 5 Wells	Beschichtet mit Gewebeschnitten von Rattenoberschenkelmuskulatur

Haltbarkeit und Lagerung

Die MASTAFLUOR™ SKMA Objektträger sind bis zu dem auf dem Etikett vermerkten Haltbarkeitsdatum verwendbar, sofern sie bei 2–8 °C aufbewahrt werden.

Serum- und (sofern relevant) Plasmaproben können 3 Tage bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Für eine längere Aufbewahrung sollten sie bei -20 °C eingefroren werden. Allerdings sollten wiederholte Einfrier-/ Auftauzyklen vermieden werden.

Warnhinweise

1. Die Objektträger dienen nur zur *in-vitro* Diagnostik.
2. Vor der Testdurchführung sorgfältig die Gebrauchsinformation lesen. Die Testdurchführung mit den verwendeten Reagenzien validieren.
3. Keine Objektträger nach dem Verfallsdatum verwenden.
4. Die allgemeinen Arbeitsschutzrichtlinien für das Arbeiten mit potentiell infektiösen Materialien einhalten. Es wird empfohlen, entsprechende Schutzkleidung zu tragen. Den Test immer in geeigneten Laborräumen abarbeiten.
5. Nicht mit dem Mund pipettieren.
6. Wenn möglich, sollten Einmalspitzen und Einmalreaktionsgefäße verwendet werden. Es dürfen nur gereinigte Laborgläser verwendet werden, die nach dem Spülen mit destilliertem Wasser abgespült wurden.
7. Nur Wasser von hoher Qualität verwenden (destilliertes Wasser oder Wasser höherer Qualität).
8. Ein Austrocknen der Wells verhindern.
9. Die Objektträger nicht direktem Sonnenlicht oder anderen vergleichbar extremen Bedingungen aussetzen.
10. Probenmaterialien und Einmalartikel, die mit dem Probenmaterial in Kontakt gekommen sind, entsprechend gängiger Vorschriften zur Entsorgung potentiell infektiösen Materials vernichten. Arbeitsflächen mit einem geeigneten Flächendesinfektionsmittel gemäß der Anwendungsvorschrift dekontaminieren. Glasgefäße o.ä. können bei 121 °C autoklaviert werden.
11. Seren, die erkenntlich mikrobiologisch kontaminiert sind, nicht verwenden.
12. Hämolytische oder lipämische Seren können bei 56 °C inaktiviert werden.

Testdurchführung (empfohlen bei Verwendung test-spezifischer MASTAFLUOR Reagenzien)

1. Vor dem Testansatz alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen (mindestens 20 °C).
2. 1 Sacht des PBS-Puffers mit 1 L destilliertem Wasser oder Wasser höherer Qualität lösen.
3. Die Patientenserum 1:20 mit PBS verdünnen.
Beispiel: 10 µL Serum + 190 µL PBS
4. Die Kit-Kontrollen sind gebrauchsfertig und müssen nicht weiter verdünnt werden.
5. Den eingeschweißten Objektträger an der Einkerbung aufreißen und vorsichtig aus der Alutüte herausnehmen.
6. Je 1 Tropfen (20–25 µL) der Kontrollen oder der verdünnten Patientenproben auf ein Testfeld pipettieren. Die Probe soll das ganze Testfeld bedecken. Mit der Pipettenspitze dabei nicht über das Testfeld kratzen.
7. Die Objektträger in eine feuchte Kammer legen. 30 min bei Raumtemperatur inkubieren.
8. Nach der Inkubation die Objektträger vorsichtig aus der feuchten Kammer nehmen und mit PBS-Puffer aus einer Spritzflasche vorsichtig auf die Mitte des Objektträgers zielen, um die Seren von den Testfeldern abzuspülen. Dabei nie direkt mit dem Spritzstrahl auf die Testfelder zielen.
9. Die Objektträger in einer Küvette mit PBS-Puffer 15 min bei Raumtemperatur waschen. Ein Wechseln des Puffers nach 5 min erhöht die Waschstringenz.
10. Die Objektträger aus dem Puffer nehmen und den Puffer kurz von der Maske abklopfen, indem man mit der Längsseite des Objektträgers auf eine saugfähige Unterlage klopft. Nie mit einem Papiertuch o. ä. über die Testfelder wischen!
11. Die Objektträger sofort in die feuchte Kammer legen und einen Tropfen des entsprechenden FITC-Konjugats (20–25 µL) auf jedes Testfeld tropfen. Das Konjugat soll das ganze Testfeld bedecken. Die Testfelder dürfen nach dem Waschschrift zu keinem Zeitpunkt eintrocknen!
12. Die Objektträger in der feuchten Kammer 30 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren.
13. Es empfiehlt sich, das Mikroskop etwa 10–15 min vor Ablauf der Konjugatinkubation anzuschalten, damit die Lampe einbrennen kann. Bitte stets die Betriebsanleitung des Mikroskops beachten.
14. Nach der Konjugatinkubation die Objektträger, wie unter den Pkt. 9 und 10 beschrieben, waschen.
15. Optional können dem letzten Waschschrift 3–5 Tropfen Evans Blue zur Gegenfärbung zugegeben werden. Mit der Gegenfärbung erreicht man eine stärkere Kontrastierung des Präparates.
Nach der Evans Blue Färbung die Objektträger kurz in eine Küvette mit frischem PBS tauchen, um Reste des Evans Blue abzuspülen.
16. Einen kleinen Tropfen Eindeckmedium auf jedes Testfeld tropfen und mit einem Deckglas den Objektträger eindecken.

Hinweis: Wird zuviel Eindeckmedium auf die Testfelder getropft, so kann das Deckglas beim Mikroskopieren leicht verrutschen. Zudem kann überschüssiges Eindeckmedium zu einer Lichtstreuung führen, was eine hohe Hintergrundfluoreszenz zur Folge hat. Überschüssiges Eindeckmedium kann mit einem saugfähigen Papiertuch entfernt werden, indem man dieses an die Längsseite des Objektträgers hält.

17. Die Reaktionen können nun mit einem Immunfluoreszenzmikroskop ausgewertet werden. Es empfiehlt sich dabei eine 200- bis 400-fache Vergrößerung (oder eine andere FITC-geeignete Lichtquelle).

Interpretation der Reaktionen (nur zutreffend bei Verwendung der geeigneten MASTAFLUOR Reagenzien)

Validierung des Tests

Zur korrekten Beurteilung der Patientenproben sollten immer die positive und negative Kontrolle mit herangezogen werden.

Interpretation

Sind Antikörper gegen die Skelettmuskulatur vorhanden, so zeigt sich eine feine, durchgehende Fluoreszenz der Querstreifen vertikal zu den Myofibrillen.

Diese Fluoreszenz wird durch die Bindung der spezifischen Antikörper an die verschiedenen Regionen des Sarkomers (I-Band, aber auch A-Band und Z-Scheiben) der quergestreiften Skelettmuskulatur erreicht.

Um eine Unterscheidung der Antikörperbindung an I- und A-Band zu treffen, ist es ratsam, ein Phasen-Kontrast-Bild zu Hilfe zu nehmen.

Literatur

1. Autoantibodies, Eds. JB Peter, Y Shoenfeld, 1996, Elsevier

Intended Use

For the detection of skeleton muscles autoantibodies on rat thigh muscle tissue sections. A sample is considered positive if a green fluorescence is visible on the respective cellular structures.

Contents

Content	50 Tests	Specifications
Slides	10 x 5 Wells	Coated with tissue section of rat thigh muscle

Stability and Storage

MASTAFUOR™ SKMA slides are stable until the end of shelf life as indicated on the label. The slides should be stored at 2–8 °C.

Serum and plasma specimens may be stored at 2–8 °C for up to 3 days prior to use or for longer storage at -20 °C. Repeated freezing and thawing of specimens should be avoided.

Warnings and Precautions

1. The reagents supplied in this kit are for *in vitro* diagnostic use only.
2. Read instructions carefully before conducting the assay. Do not modify the procedure.
3. Do not use kit beyond the expiry date.
4. Wear appropriate protective clothing and use appropriate facilities.
5. Do not mouth pipette.
6. Use disposable plastic ware where ever possible. Reusable glassware should be washed thoroughly and rinsed free of detergents before use.
7. Use distilled water or water of higher quality.
8. Do not allow wells to dry out during the assay procedures.
9. Do not expose slides to intense sunlight or similar adverse conditions while incubating.
10. Contaminated plastic ware should be disposed and incinerated. Contaminated glassware should either be autoclaved at 121 °C or decontaminated with a solution of 2.5 % sodium hypochlorite. All liquid waste should be decontaminated appropriately e.g. using sodium hypochlorite.
11. Microbial contaminated serum samples should not be used.
12. In the event that haemolysed or lipemic serum must be used, heat inactive at 56 °C before use

Test Procedure (valid only for assay specific MASTAFUOR reagents)

1. Allow all materials to reach room temperature (at least 20 °C) prior to use.
2. Reconstitute one sachet of PBS powder with 1 litre of distilled water or water of higher quality.
3. Dilute patient samples 1:20 with PBS.
Example: 10 µL serum + 190 µL of PBS.

4. Controls are supplied ready to use and must not be diluted.
5. Carefully remove the required number of slides from their sachets and mark accordingly. Hold the slide at the edge and do not touch the wells. Place the slides in a moist chamber.
6. Apply 20–25 µL of diluted specimens and ready to use controls to respective wells on the slides according to a prepared work format. Ensure that all the wells are covered and that serum does not escape from the wells.

Direct contact of a pipette tip with the slide surface may result in damage to the antigen substrate and should be avoided.

7. Cover the moist chamber and incubate at room temperature for 30 min.
8. After incubation wash slides carefully with PBS from a wash bottle, taking care not to direct the jet onto the test wells. This may be done by directing the jet of PBS along the centre of the slide, tilting the slide first towards wells 1–5 and then towards 6–10.
9. Immerse the slides in a staining dish or Coplin jar containing PBS and wash for 15 min. A change of the PBS buffer after 5 min increases washing strength.
10. Remove slides one at a time from the staining jar and drain off any excess PBS. Using a blotter, dry the area outside wells. Wipe off any excess PBS from the back of the side. Do not touch the well surface.
11. Immediately transfer the slide to a moist chamber and add 20–25 µL of FITC-conjugate to each well. Ensure that all the wells are covered by the conjugate.
12. Incubate slides at room temperature in a covered moist chamber in the dark for 30 min.
13. Switch on microscope 15 min prior to use.
14. After incubation wash the slides with PBS as in steps 9 and 10.
15. Optional counter stain: add 3–5 drops of Evans Blue to the PBS wash buffer in the last 5 min washing step. The counter stain increases the contrast of the immunofluorescent pattern.
Briefly wash the slides in PBS to remove all Evans Blue.
16. Apply one small drop of Mounting Medium to each well on a slide. Place a cover slip on the slide and read the results immediately. Take care not to trap air pockets under the cover slip.
Excess Mounting Medium on a slide may result in high background fluorescence due to light scattering. Remove excess Mounting Medium with a paper towel avoiding any direct movement of the cover slip.
17. Examine under a fluorescence microscope at a total magnification of 200x to 400x (or any other FITC suitable light source).

Interpretation of Specimen Results (valid only for assay specific MASTAFLUOR reagents)

Test Validation

The evaluation should always be performed with the positive and negative controls. Specimens are assessed by way of comparison with the controls.

Interpretation

The presence of anti-skeletal muscle antibodies is indicated by fine and continuous fluorescent cross lines vertical to the myofibrils.

This is caused by the binding of specific antibodies to the various regions of the sarcomere mainly in the regions of the I- but also of the A-band and Z-stripes.

To distinguish between the fluorescence of the I- and the A-band, a phase-contrast picture is advised.




Literature

1. Autoantibodies, Eds. JB Peter, Y Shoenfeld, 1996, Elsevier

Notizen / Notes / Note:

Notizen / Notes / Note:

**Erläuterungen zu den auf den Etiketten verwendeten graphischen Symbolen:
 Explanations of abbreviations and icons used on labels:**

SLIDES	Objekträger	Slides
LOT	Charge	Batch
REF	Bestellnummer	Order code
	Gebrauchsinformation beachten	Read instructions for use
	Verfallsdatum	Expiry Date
	Lagerung bei	Storage