


PROTILÁTKY PROTI ENDOMYSIU (AEA)



Kód 44148 16 testů	Kód 44548 48 testů	Kód 44715 96 testů	PROTILÁTKY PROTI ENDOMYSIU (AEA)  Opičí jícen (Endomysium)	
Kód 44557	12x4 testů	Kód 44710		12x8 testů
Skladovat při 2 - 8°C				
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek proti endomysiu. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.				

PRINCIP METODY

Anti-endomysiální protilátky (AEA) ze séra se vážou na odpovídající antigeny přítomné v řezu dolní třetiny opičího jícnu. Ke zviditelnění komplexu antigen-protilátka je použito sérum s anti-human imunoglobulinem A značeným fluoresceinem. Vyhodnocení se provádí fluorescenčním mikroskopem¹.

D. IgA FITC/Evans (kód 44692) konjugát s Evansovou modří.
D. IgG FITC/Evans (M)

E. Montovací medium (kód 44694)
C+ AEA pozitivní kontrola (kod 44549)
C+ AEA IgG pozitivní kontrola
C- Negativní kontrola (kod 44696)

OBSAH

	KÓD 44 148	KÓD 44 548	KÓD 44 715
A. Sklíčka	4 x 4 testy	12 x 4 testů	12 x 8 testů
B. PBS (10x)	1 x 100 mL	1 x 100 mL	1 x 100 mL
C+ AEA Pozitivní kontrola	1 x 0,3 mL	1 x 0,3 mL	1 x 0,3 mL
C- Negativní kontrola	1 x 0,3 mL	1 x 0,3 mL	2 x 0,3 mL
D. IgA FITC/Evans	1 x 3,5 mL	1 x 3,5 mL	2 x 3,5 mL
E. Montovací medium	1 x 3 mL	1 x 3 mL	1 x 3 mL
F. Odsávací papír	1 x 4	1 x 12	1 x 12
	KÓD 44 557	KÓD 44 710	
A. Sklíčka	12 x 4 testy	12 x 8 testů	

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

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 skříčka 24 x 60 mm
- Fluorescenční mikroskop s excitačním filtrem 495 nm a 525 emisním filtrem.

SLOŽENÍ

- A. **Skříčka:** každá jamka obsahuje řez opičím jícnem (endomysium)
- 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+. **AEA Pozitivní kontrola:** lidské sérum obsahující anti-endomysiální protilátky (AEA), azid sodný 0,95 g/l.
- C-. **Negativní kontrola:** lidské sérum, azid sodný 0,95 g/l
- D. **IgA FITC/Evans:** kozí anti-human IgA protilátky konjugované s fluorescein izothiokyanátem (FITC), 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 použita 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

Skladujte 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
- Skříčka: natržení sáčku, makroskopické defekty na buněčných kulturách, jako je poškrábání nebo sloupnutí.

POMOCNÉ REAGENCIE

- Pro kódy 44148, 44548 a 44715 není třeba dalších reagentů.
- Pro kódy 44557 a 44710 je třeba objednat následující reagencie:
B. PBS (10x) (kód 44592)

VZORKY

Sérum nebo plazma odebraná standardním postupem. Stabilní po dobu 1 týdne při 2-8°C.
Sérum zředte 1/5 v PBS (Viz. příprava reagentů). K titraci pozitivních vzorků ředte dvojkovou řadou v PBS, přičemž začnete ředěním 1/5.


PRACOVNÍ POSTUP

1. Vytemperujte reagencie a vzorky na pokojovou teplotu.
2. Kápněte 1 kapku (50 µL) naředěného vzorku, nebo kontroly do každé jamky s tkáňovým řezem. Ujistěte se, že řez je kompletně pokrytý. (Poznámka 1).
3. Inkubujte skříčka 30 minut při pokojové teplotě (15-30°C) uvnitř zvlhčovací komůrky.
4. Nakloňte skříčko a opatrným poklepáváním o filtrační papír odstraňte přebytečné kapky vzorku. Zabraňte zkřížené kontaminaci.
5. Opláchněte krátce v lehkém proudu PBS (viz. příprava reagentů) (Poznámka 2).
6. Skříčka důkladně promyjte v nádobě obsahující PBS po dobu 5 minut. Poté PBS vyměňte a promývání zopakujte.
7. Opatrně skříčko osušte s použitím speciálního odsávacího papíru. Jamky nevysušujte, musí zůstat vlhké po celou dobu procedury.
8. Do každé jamky přidejte 1 kapku reagentu D. Skříčka inkubuje 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 reagentu E a opatrně přikryjte krycím skříčkem tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

ODEČÍTÁNÍ

Skříčka vyhodnocuje s použitím fluorescenčního mikroskopu (zvětšení 250-400x). Pro lepší výsledky skříčka vyhodnocuje okamžitě. Pro odečet zvolte vnitřní část tkáňového řezu, intenzita fluorescence v okrajích není charakteristická.
Séra, která dávají fluorescenční obraz ve slabé vrstvě obklopující svalová vlákna opičího jícnu a obraz připomíná síť, lze považovat za pozitivní.

PROTILÁTKY PROTI ENDOMYSIU (AEA)

Kód 44148 16 testů	Kód 44548 48 testů	Kód 44715 96 testů	PROTILÁTKY PROTI ENDOMYSIU (AEA)  Opičí jícen (Endomysium)	
Kód 44557	12x4 testů	Kód 44710		12x8 testů
Skladovat při 2 - 8°C				
Reagencie pro kvalitativní stanovení protilátek proti endomysiu. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.				

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 44148, 44548 nebo 44715 by měla být testována společně se vzorkem pacienta, aby se verifikovala pravdivost zkoušky. Pozitivní kontrola (C+) by měla vykazovat výše popsany 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

IgA FITC/Evans je kalibrován oproti internímu referenčnímu standardu pro FITC značený ovčí anti-human IgA imunoglobulin. IgG FITC/Evans (M) je kalibrován proti WHO mezinárodnímu standardu pro FITC značený ovčí anti-human IgG imunoglobulin. Specifita AEA Pozitivní kontroly byla ověřena proti internímu lidskému referenčnímu séru.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Antiendomysialní protilátky třídy IgA lze nalézt u pacientů s aktivní celiakií nebo dermatitis herpetiformis. Diagnostická citlivost pro celiakii je u neléčených pacientů 68-100% a diagnostická specifita 99-100% což svědčí o vysoké pozitivní a negativní prediktivní hodnotě^{2,3}.

Citlivost IgA-AEA pro dermatitis herpetiformis je 70-80%, ale zvyšuje se až na 100%, je-li spojena s enteropatií způsobenou přecitlivělostí na lepek⁴. V případě celiakie při imunodeficienci IgA protilátek mohou být specifické protilátky detekovány za použití IgG konjugátu FITC/Evans (M) a AEA IgG pozitivní kontroly.

Souprava BioSystems anti-endomysialní protilátky byla použita při testování 91 sér pacientů s různými autoimunitními onemocněními, a také u zdravých dárců. Výsledky jsou popsány níže.

n	Pacienti	IgA		IgG	
		Pozitivní	Negativní	Pozitivní	Negativní
50	Celiakie	50	0		
20	Ostatní autoimunitní onemocnění	0	20		
5	Onemocnění s celiakií s imunodeficiencí IgA	0	5	2	3
50	Zdraví dárce	0	50	0	50

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

POZNÁMKA

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

LITERATURA

- Melnicoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. En: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
- Kapuscinska A et al. Disease specificity and dynamics of changes in IgA class anti-endomysial antibodies in celiac

disease. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 1987; 6:529- 534.

- Scott H and Brandtzaeg P. Endomysial autoantibodies. In: James B. Peter and Yehuda Schoenfeld eds. Autoantibodies. Elsevier, 1996.
- Hälstrom O. Comparison of IgA-class reticulín and endomysium antibodies in coeliac disease and dermatitis herpetiformis. Gut 1989; 30:1225 – 1232.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 2.9.2019.

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.

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

Výhradní distributor:

ČR : JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5, 150 21 Praha5, tel.: +420 257 220 760

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