



# ANTI- ENDOMYSIÁLNE PROTILÁTKY (AEA)



Kód 44148 16 testov	Kód 44548 48 testov	Kód 44715 96 testov	<b>ANTI – ENDOMYSIÁLNE PROTILÁTKY (AEA)</b>  Nepriama imunofluorescencia Opičí pažerák ( endomysium)
Kód 44557 12 x 4 testov		Kód 44710 12 x 8 testov	
Skladovanie pri 2 - 8°C			
Reagencie na kvalitatívne stanovenie anti-endomysiálnych protilátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku			

## PRINCÍP METÓDY

Anti- endomysiálne protilátky zo séra sa viažu na odpovedajúci antigén prítomný v reze dolnej tretiny opičieho pažeráka. Výsledný komplex antigén-protilátka je detekovaný pomocou anti-lidského imunoglobulínu A značeného fluoresceínom. Vyhodnotenie sa uskutočňuje pomocou fluorescenčného mikroskopu. <sup>1</sup>

## OBSAH

	kód 44148	Kód 44548	Kód 44715
<b>A.</b> sklička	4 x 4 testov	12 x 4 testov	12 x 8 testov
<b>B.</b> PBS (10x)	1x100ml	1x100ml	1x100ml
<b>C+</b> AEA pozitívna kontrola	1x0,3ml	1x0,3ml	2x0,3ml
<b>C-</b> Negatívna kontrola	1x0,3ml	1x0,3ml	1x0,3ml
<b>D.</b> IgG FITC/Evans	1x3,5ml	1x3,5ml	2x3,5ml
<b>E.</b> Montovacie médium	1x3ml	1x3ml	1x3ml
<b>F.</b> Savý papier	1x4	1x12	1x12

	Kód 44557	Kód 44710
<b>A.</b> sklička	12x4 testov	12x8 testov

## ZLOŽENIE

- A. Sklička** : rez opičieho pažeráka (endomysium) v každej jamke
- B. PBS(10x)** : Fosforečnan sodný, fosforečnan draselný, chlorid sodný, azid sodný 0,95g/l. pH 7,2
- C+** **AEA Pozitívna kontrola** : ľudské sérum obsahujúce anti-endomysiálne protilátky (AEA), azid sodný 0,95 g/l
- C-** **Negatívna kontrola** ( kód 44696) : ľudské sérum, azid sodný 0,95g/l
- D. IgG FITC/Evans** : kozí anti-ludský IgG konjugovaný s fluoresceín izotiokyanátom (FITC), Evansova modrá 0,01g/l, azid sodný 0,95g/l
- E. Montovacie médium** : Mowiol, Glycerol, Tris, azid sodný 0,95 g/L
- F. Savý papier**

Ľudské séra použité pri príprave pozitívnej a negatívnej kontroly boli testované s negatívnym výsledkom na anti-HIV a anti-HCV a rovnako na HBs antigén. I napriek tomu zaobchádzajte s kontrolami ako s potencionálne infekčným materiálom.

## SKLADOVANIE

Skladujte pri 2 – 8°C.

Reagencie sú stabilné do dátumu uvedeného na štítku v prípade, že sú skladované uzatvorené a je zabránené kontaminácii v priebehu ich používania.

## Príznačky zhoršenia kvality :

- Kvapalná reagencia : Prítomnosť zrazeniny, zákalu
- Mikrotitračné doštičky : natrhnutie sáčku, makroskopické defekty na bunečných kultúrach, ako je poškrabanie dna jamiek, odlúpnutie.

## POMOCNÉ REAGENCIE

- pre kódy 44148, 44548 a 44715 nie je potrebné objednávať ďalšie reagencie
- pre kódy 44557 a 44710 je potrebné objednať nasledujúce reagencie :

**B. PBS (10x) (kód 44592)**

**D. IgA FITC/Evans**, konjugát s Evansovou modrou pre kvalitnejšie rozlíšenie ( kód 44692 )

**D. IgG FITC/Evans (M)**

**C+** **AEA Pozitívna kontrola** (kód 44549)

**E. Montovacie médium** (kód 44694)

**C-** **AEA Negatívna kontrola** (kód 44696)

## PRÍPRAVA REAGENCIÍ

**PBS:** Reagenciu B nariedte destilovanou vodou v pomere 1/10. Stabilná 1 mesiac pri 2-8 ° C, ak boli pri skladovaní dodržané odporúčané teploty, reagencia bola dobre uzatvorená a nedošlo ku kontaminácii v priebehu jej používania. Ostatné činidlá sú pripravené k priamemu použitiu.

## PRÍDAVNÉ ZARIADENIA

- zvlhčovacia komôrka
- premývacie zariadenie
- krycie sklička 24x60 mm
- fluorescenčný mikroskop s excitačným filtrom 495nm a 525 nm emisným filtrom pre FITC vizualizáciu

## VZORKY

Sérum alebo plazma odobraná štandardným spôsobom. Stabilita – 1 týždeň pri 2 – 8°C. Vzorku pred testovaním zriedte v pomere 1/5 PBS – vid' príprava reagensí. Na titráciu pozitívnych vzoriek riedte dvojkovým radom v PBS – začnite riedením 1/5.



# ANTI- ENDOMYSIÁLNE PROTILÁTKY (AEA)



Kód 44148 16 testov	Kód 44548 48 testov	Kód 44715 96 testov	<b>ANTI – ENDOMYSIÁLNE PROTILÁTKY (AEA)</b> Nepriama imunofluorescencia Opičí pažerák ( endomysium)
Kód 44557 12 x 4 testov		Kód 44710 12 x 8 testov	
Skladovanie pri 2 - 8°C			
Reagencie na kvalitatívne stanovenie anti-endomysiálnych protilátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku			

## POSTUP

1. Vytemperujte všetky činidlá na izbovú teplotu.
2. Aplikujte 1 kvapku (50µl) nariadenej vzorky alebo kontroly do každej jamky s tkanivovým rezom . Uistite sa, že rez je kompletne pokrytý. (Poznámka1)
3. Sklíčka dajte do zvlhčovacej komôrky a inkubujte 30 minút pri izbovej teplote (15-30°C).
4. Sklíčko nakloňte a opatrným poklepávaním o filtračný papier odstráňte prebytočné kvapky vzorky. Zabráňte skríženej kontaminácii.
5. Zľahka opláchnite reagensiou PBS ( vid' **PRÍPRAVA REAGENCIÍ**). (Poznámka2)
6. Sklíčka premývajte 5 minút v nádobe obsahujúcej PBS. Potom PBS vymeňte a premývanie zopakujte.
7. Sklíčko opatrne osušte špeciálnym odsávacím papierom.
8. Jamky musia zostať vlhké v priebehu celej procedúry, preto ich nevysušujte.
9. Premývajte podľa bodu 6 a osušte podľa bodu 7.
10. Do každej jamky pridajte niekoľko kvapiek reagensie E a opatrne prekryte krycím sklíčkom tak, aby nevznikli vzduchové bubliny.

## ODČÍTANIE

Sklička vyhodnocujte pomocou fluorescenčného mikroskopu (zväčšenie 250-400x). Aby ste dosiahli najlepšie výsledky, vyhodnocujte sklíčka okamžite. Zvoľte vnútornú časť tkanivového rezu. Intenzita fluorescencie na okrajoch nie je charakteristická.

Za pozitívne je možné považovať séra, ktoré dávajú v slabej vrstve obklopujúcej svalové vlákna opičieho pažeráka fluorescenčný obraz pripomínajúci sieť . Pozitívne séra sa môžu titrovať. Titer séra je definovaný ako najvyššie riedenie vykazujúce pozitívny výsledok. V prípade, že nie je pozorované vyššie uvedené špecifické sfarbenie/fluorescencia, výsledok testu by sa mal považovať za negatívny na tieto protilátky.

## KONTROLA KVALITY

Pozitívna (C+) a negatívna kontrola (C-) by mala byť testovaná spoločne so vzorkou pacienta, ak bola zakúpená so súpravou kód 44148, 44548, alebo 44715, aby bolo verifikované správne prevedenie testu.

Pozitívna kontrola (C+) by mala vykazovať vyššie popísaný špecifický obraz.

Negatívna kontrola (C-) by nemala dávať žiaden špecifický obraz.

Každé laboratórium by si malo stanoviť svoju vlastnú vnútornú kontrolu kvality a postupy pre nápravné jednanie v prípade, že kontroly nie sú v tolerančnom rozpätí.

## CHARAKTERISTIKA TESTU

IgA FITC/Evans konjugát je kalibrováný oproti WHO Medzinárodnému štandardu pre ovčie anti-ludský IgA imunoglobulín konjugovaný s FITC.

IgG FITC/Evans konjugát je kalibrováný oproti WHO Medzinárodnému štandardu pre ovčie anti-ludský IgG imunoglobulín konjugovaný s FITC.

Špecifita AEA pozitívnej kontroly bola overená oproti internému referenčnému ľudskému séru.

## DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Anti - endomysiálne protilátky (AEA) triedy IgA sa vyskytujú u pacientov s aktívnou celiakiou alebo dermatitis herpetiformis.

Diagnostická senzitivita pre celiakiu je u neliečených pacientov 68-100% a diagnostická špecifita je 99-100%. Tieto údaje svedčia o vysokej pozitívnej a negatívnej prediktívnej hodnote.<sup>2,3</sup> Senzitivita IgA - AEA pre dermatitis herpetiformis je 70-80%, ale v prípade pridruženia enteropatie spôsobenej citlivosťou na lepok sa zvyšuje na 100%<sup>4</sup> V prípade nedostatku IgA protilátok pri celiakii, môžu byť špecifické protilátky detekované pomocou IgG konjugátu FITC/Evans (M). Súprava BioSystems AEA protilátky bola použitá pri testovaní sér od 125 pacientov s rôznymi autoimunitnými ochoreniami, ako aj od zdravých darcov. Výsledky sú popísané nižšie.

poč.	IgA			IgG	
	diagnoza	poz.	neg.	poz.	neg.
50	celiakia	50	0	-	-
20	ostatné autoimunitné choroby	0	20	-	-
5	celiakia s IgA deficienciou	0	5	2	3
50	zdarví darcí	0	50	0	50

Klinická diagnóza nemôže byť stanovená na základe výsledkov jediného testu, musí byť posúdená na základe klinických i laboratórnych údajov.

## POZNÁMKY

1. Nedotýkajte sa behom testu tkanivových rezov v jamkách.
2. Na premytie použite stričku alebo pipetu. Zabráňte skríženej kontaminácii medzi vzorkami.

## LITERATÚRA

1. Melnicoff MJ. Immunofluorescence Methods for Microscopic Analysis. En: Howard GC ed. Methods in Nonradioactive Detection. Appleton & Lange, 1993.
2. 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.



## ANTI- ENDOMYSIÁLNE PROTILÁTKY (AEA)



Kód 44148 16 testov	Kód 44548 48 testov	Kód 44715 96 testov	<b>ANTI – ENDOMYSIÁLNE PROTILÁTKY (AEA)</b> Nepriama imunofluorescencia Opičí pažerák ( endomysium)
Kód 44557 12 x 4 testov		Kód 44710 12 x 8 testov	
Skladovanie pri 2 - 8°C			
Reagencie na kvalitatívne stanovenie anti-endomysiálnych protilátok . Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku			

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

### UPOZORNENIE

Slovenský preklad k 29.12.2021.  
Vzhľadom k novej inovácii výrobku sa odporúča prekontrolovať slovenský preklad s originálnym príbalovým letákom tak, že sa porovnajú identifikačné čísla uvedené v zápätí. Originálny návod nájdete v súpave a na internetovej adrese [www.biosystems.es](http://www.biosystems.es).  
Slovenský návod je k dispozícii na [www.jktrading.cz](http://www.jktrading.cz).

#### Výhradný distribútor:

**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 prípade mimoriadnych udalostí:

**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