

Nur für "In-Vitro Diagnostik"

Bestell-Nr.: 704145, 704150, 704155, 704055, 704255  
504145, 504145.10, 504150, 504150.25  
504155.25, 504255.25

CLIA Kompliziertheit: Hoch

## Verwendungszweck

Affen-Oesophagus-Schnitte für die indirekte Immunfluoreszenz dienen zum Screening auf zirkulierende intra-epidermale Autoantikörper oder Autoantikörper gegen die epidermale Basalmembran zur Unterstützung der Diagnose von Pemphigus und bullösem Pemphigoid. Auf diesem Gewebe können zur Unterstützung der Diagnose von Zöliakie ebenfalls endomysiale Autoantikörper nachgewiesen werden.

## Informationen zum Test

Intra-epidermale IgG Autoantikörper sind für verschiedene klinische Formen von Pemphigus charakteristisch und reagieren mit Antigenen, die auf der Zelloberfläche von epidermalen Keratinozyten lokalisiert sind. Eine positive Probe zeigt ein charakteristisches "Hühnerzaun-Muster". In fast allen Fällen wird eine Immunglobulinablagerung im Gewebe gefunden. Es wird empfohlen, dass bei Patienten mit Verdacht auf bullöse Dermatosen immer Serum und Gewebe untersucht wird. Autoantikörper gegen die epidermale Basalmembran sind typisch für das bullöse Pemphigoid. In der direkten Biopsie werden lineare Ablagerungen von IgG und C3 neben der dermo-epidermalen Junktionszone gefunden. Diese Autoantikörper sind in der Regel, aber nicht immer, im Serum der betroffenen Patienten nachweisbar. Der Antikörper-Titer korreliert nicht mit dem klinischen Bild, d.h. bei einer Remission kann der Autoantikörper nach wie vor im Serum und Gewebe vorhanden sein. Zum Nachweis dieser Autoantikörper enthält dieser Kit ein Anti-Human-IgG-(H+L)-FITC-Konjugat. Endomysiale Autoantikörper sind gegen 'Retikulin-ähnliche' Fasern des Bindegewebes, das um Fasern der glatten Muskeln im Intestinaltrakt von Primaten liegt, gerichtet. Für anti-endomysiale Antikörper der Klasse IgA wird für Zöliakie eine Sensitivität und Spezifität von nahezu 100% berichtet<sup>1,2</sup>. Zum Nachweis dieser Autoantikörper enthält der Kit ein Anti-Human-IgA-FITC-Konjugat.

## Testprinzip

Dieser Kit arbeitet auf Basis der indirekten Immunfluoreszenztechnik<sup>3</sup>, bei der Patientenseren und Kontrollseren auf den Schnitten inkubiert werden. Die Antikörper, die nicht mit dem Substrat reagiert haben, werden durch Waschen entfernt und das Fluoreszein-markierte Konjugat wird aufgetragen. Nach der Inkubation wird das überschüssige Konjugat durch waschen entfernt und die Gewebeschnitte unter dem Fluoreszenzmikroskop ausgewertet. Positive Proben zeigen in den Bereichen der Schnitte, in denen die Autoantikörper an entsprechende Strukturen gebunden haben, eine apfelgrüne Fluoreszenz.

## Inhalt der Testpackung

1. Objektträger mit Affen-Oesophagus-Schnitten (5 oder 10 Auftragsstellen), mit Trockenmittel

### Gilt nur für Kits 704145 und 704150:

2. Zweie positivkontrollen aus Humanserum hergestellt. Eine zeigt das Pemphigus 'Hühnerzaun-Muster', die zweite das 'retikulin-ähnliche' endomysiale Muster auf Affen-Oesophagus-Schnitten. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,09% Natriumazid. Die Positivkontrollen sind **vorverdünnt und gebrauchsfertig**.
3. Negativkontrolle ist negativ für alle Autoantikörper. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,09% Natriumazid. Sie liegt **vorverdünnt und gebrauchsfertig** vor.
4. Die phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) liegt als 40-fach Konzentrat vor.
5. Affinitätsgereinigtes Schaf Anti-Human-IgG-(H+L)-Fluoreszein-Konjugat (affen-adsorbiert) und Schaf Anti-Human-IgA-Fluoreszein-Konjugat. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,09% Natriumazid. Es liegt **vorverdünnt und gebrauchsfertig** vor.
6. 1% Evans-Blue-Lösung zur optionalen Gegenfärbung
7. Saugfähige Papierblotter
8. Eindeckmedium ist speziell für die Immunfluoreszenz und enthält ein anti-fading Reagenz
9. Deckgläschen zum Abdecken der Objektträger

### Gilt nur für Kit 704155:

2. Positivkontrollen aus Humanserum hergestellt. 'Retikulin-ähnliche' endomysiale Muster auf Affen-Oesophagus-Schnitten. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,09% Natriumazid. Die Positivkontrollen sind **vorverdünnt und gebrauchsfertig**.
3. Negativkontrolle ist negativ für alle Autoantikörper. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,09% Natriumazid. Sie liegt **vorverdünnt und gebrauchsfertig** vor.
4. Die phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) liegt als 40-fach Konzentrat vor.
5. Schaf Anti-Human-IgA-Fluoreszein-Konjugat. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,09% Natriumazid. Es liegt **vorverdünnt und gebrauchsfertig** vor.
6. 1% Evans-Blue-Lösung zur optionalen Gegenfärbung
7. Saugfähige Papierblotter
8. Eindeckmedium ist speziell für die Immunfluoreszenz und enthält ein anti-fading Reagenz
9. Deckgläschen zum Abdecken der Objektträger

## 704255

Beachten Sie bitte, dass diese Objektträger ein anderes Format aufweisen als die, die für den Haupteinsatz beschrieben wurden; sie sind mit Mehrkanalpipetten kompatibel. Dies wirkt sich nur auf die Position der Wells aus. Sämtliche anderen technischen und Leistungsdaten der Objektträger ändern sich nicht.

1. Mehrkanal-Objektträger mit Affen-Oesophagus-Schnitten (10 Auftragsstellen), mit Trockenmittel
2. Zweie positivkontrollen aus Humanserum hergestellt. Eine zeigt das Pemphigus 'Hühnerzaun-Muster', die zweite das 'retikulin-ähnliche' endomysiale Muster auf Affen-Oesophagus-Schnitten. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,09% Natriumazid. Die Positivkontrollen sind **vorverdünnt und gebrauchsfertig**.
3. Negativkontrolle ist negativ für alle Autoantikörper. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,09% Natriumazid. Sie liegt **vorverdünnt und gebrauchsfertig** vor.
4. Zweie Die phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) liegt als 40-fach Konzentrat vor.
5. Zweie Schaf Anti-Human-IgA-Fluoreszein-Konjugat. Enthaltene Konservierungsmittel: 0,09% Natriumazid. Es liegt **vorverdünnt und gebrauchsfertig** vor.
6. 1% Evans-Blue-Lösung zur optionalen Gegenfärbung
7. Eindeckmedium ist speziell für die Immunfluoreszenz und enthält ein anti-fading Reagenz
8. Deckgläschen zum Abdecken der Objektträger

## Hinweise/Vorsichtsmaßnahmen

Das Ausgangsmaterial zur Erstellung der Kontrollen stammt aus menschlichem Blut. Jede Einzelspende wurde mit Tests bezüglich Antikörpern gegen Human-Immunschwäche-Virus (HIV 1 & 2), Hepatitis C-Virus und Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAG) untersucht und als negativ befunden. Es gibt aber zur Zeit keine absolut sicheren Testmethoden zum Ausschluss von HIV, Hepatitis-C-Virus, Hepatitis B-Virus und anderen Infektionsträgern. Deshalb sollten die Reagenzien als potentiell infektiös behandelt werden. Umgangs- und Entsorgungsmethoden sollten denen für potentiell infektiöses Material entsprechen und der Test nur von entsprechend geschultem Personal durchgeführt werden. Die Evans-Blue-Lösung und die Kit-Kontrollen enthalten 0,09% Natriumazid als Konservierungsmittel. Deshalb sollten die entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen beachtet werden. Verschlucken sowie Kontakt mit Haut oder Schleimhäuten vermeiden. Nach Kontakt Hautstelle mit viel Wasser abspülen und ärztlichen Rat einholen. Natriumazid kann mit Blei- oder Kupferrohren explosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung mit ausreichender Menge Wasser nachspülen um Azidablagerungen zu vermeiden. Dieses Produkt sollte nur von entsprechend geschultem Laborpersonal für den angegebenen Verwendungszweck verwendet werden. Die Einhaltung der Arbeitsvorschrift wird empfohlen.

## Lagerung

Ungeöffnete Kits oder Objektträger bei 2-8°C lagern, sie sind so bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendbar. NICHT EINFRIEREN! Ist der Folienbeutel eines Objektträgers einmal geöffnet, muss er sofort verwendet werden. Der verdünnte PBS-Puffer ist bis zu einem Monat bei 2 - 8°C haltbar. Alle anderen Reagenzien bei 2-8°C aufbewahren.

## Proben

Blutproben über Venenpunktur sammeln und bei Raumtemperatur gerinnen lassen. Das Serum so schnell wie möglich vom Gerinnsel abtrennen um eine Hämolyse zu vermeiden. Die Seren können bei 2-8°C bis zu 7 Tage vor dem Test gelagert werden.<sup>8</sup> Für eine längere Lagerung empfiehlt es sich, die Seren aliquotiert bei mindestens -20°C einzufrieren. Serum nur einmal einfrieren und auftauen. Keine stark lipämische, hämolytische oder mikrobiell verunreinigte Seren verwenden, da dadurch erniedrigte Titer oder unklare Muster auftreten können.

## Testdurchführung

### Gelieferte Materialien (Kits)

#### 704145

1. 10 x *Monkey Oesophagus – 5-well slide* (Objektträger, je 5 Auftragsstellen, mit Affen-Oesophagus-Schnitten)
2. 1 x 1mL *Pemphigus Positive Control* (Pemphigus-Positivkontrolle, gebrauchsfertig)
3. 1 x 1mL *Endomysial (Celiac) Positive Control* (Endomysium (Zöliakie)-Positivkontrolle, gebrauchsfertig)
4. 1 x 1mL *IFA System Negative Control* (IFA-System Negativkontrolle, gebrauchsfertig)
5. 1 x 7mL *FITC IgG (H&L), monkey adsorbed Conjugate* (IgG-(H&L)-FITC-Konjugat (affenadsorbiert))
6. 1 x 7mL *Anti-Human IgA (α) AFF FITC* (anti-human-IgA-(α-Kette)-FITC-Konjugat)
7. 1 x 3mL *1% Evans Blue Counterstain* (1% Evans-Blue-Lösung)
8. 2 x 25mL *PBS concentrate (x40)* (PBS-Puffer - 40-fach Konzentrat)
9. 1 x 3mL *Mounting Medium* (Eindeckmedium)
10. 20 x *Blotters* (Blotter)
11. 10 x *Coverslips* (Deckgläschen)
12. 1 x Arbeitsanleitung

## 704150

1. 25 x *Monkey Oesophagus – 10-well slide* (25 x Objektträger, je 10 Auftragsstellen, mit Affen-Oesophagus-Schnitten)
2. 1 x 1mL *Pemphigus Positive Control* (Pemphigus-Positivkontrolle, gebrauchsfertig)
3. 1 x 1mL *Endomysial (Celiac) Positive Control* (Endomysium (Zöliakie)-Positivkontrolle, gebrauchsfertig)
4. 1 x 1mL *IFA System Negative Control* (IFA-System Negativkontrolle, gebrauchsfertig)
5. 1 x 15mL *FITC IgG (H&L), monkey adsorbed Conjugate* (IgG-(H&L)-FITC-Konjugat (affenadsorbiert))
6. 1 x 15mL *Anti-Human IgA ( $\alpha$ ) AFF FITC* (anti-human-IgA-( $\alpha$ -Kette)-FITC-Konjugat)
7. 1 x 3mL *1% Evans Blue Counterstain* (1% Evans-Blue-Lösung)
8. 2 x 25mL *PBS concentrate (x40)* (PBS-Puffer - 40-fach Konzentrat)
9. 1 x 10mL *Mounting Medium* (Eindeckmedium)
10. 50 x *Blotters* (Blotter)
11. 25 x *Coverslips* (Deckgläschen)
12. 1 x Arbeitsanleitung

## 704155

1. 25 x *Monkey Oesophagus – 10-well slide* (25 x Objektträger, je 10 Auftragsstellen, mit Affen-Oesophagus-Schnitten)
2. 1 x 1mL *Endomysial (Celiac) Positive Control* (Endomysium (Zöliakie)-Positivkontrolle, gebrauchsfertig)
3. 1 x 1mL *IFA System Negative Control* (IFA-System Negativkontrolle, gebrauchsfertig)
4. 2 x 15mL *Anti-Human IgA ( $\alpha$ ) AFF FITC* (anti-human-IgA-( $\alpha$ -Kette)-FITC-Konjugat)
5. 1 x 3mL *1% Evans Blue Counterstain* (1% Evans-Blue-Lösung)
6. 2 x 25mL *PBS concentrate (x40)* (PBS-Puffer - 40-fach Konzentrat)
7. 1 x 10mL *Mounting Medium* (Eindeckmedium)
8. 50 x *Blotters* (Blotter)
9. 25 x *Coverslips* (Deckgläschen)
10. 1 x Arbeitsanleitung

## 704255

1. 25 x *Monkey Oesophagus Multichannel – 10-well slide* (Mehrkanal Objektträger, je 10 Auftragsstellen, mit Affen-Oesophagus-Schnitten)
2. 1 x 1mL *Endomysial (Celiac) Positive Control* (Endomysium (Zöliakie)-Positivkontrolle, gebrauchsfertig)
3. 1 x 1mL *IFA System Negative Control* (IFA-System Negativkontrolle, gebrauchsfertig)
4. 2 x 15mL *Anti-Human IgA ( $\alpha$ ) AFF FITC* (anti-human-IgA-( $\alpha$ -Kette)-FITC-Konjugat)
5. 1 x 3mL *1% Evans Blue Counterstain* (1% Evans-Blue-Lösung)
6. 2 x 25mL *PBS concentrate (x40)* (PBS-Puffer - 40-fach Konzentrat)
7. 1 x 10mL *Mounting Medium* (Eindeckmedium)
8. 25 x *Coverslips* (Deckgläschen)
9. 1 x Arbeitsanleitung

## Gelieferte Materialien (Objektträger)

- |                  |   |
|------------------|---|
| <b>504145</b>    | 1 Affen-Oesophagus Objektträger mit 5-Auftragsstellen             |
| <b>504145.10</b> | 10 Affen-Oesophagus Objektträger mit 5-Auftragsstellen            |
| <b>504150</b>    | 1 Affen-Oesophagus Objektträger mit 10-Auftragsstellen            |
| <b>504150.25</b> | 25 Affen-Oesophagus Objektträger mit 10-Auftragsstellen           |
| <b>504155.25</b> | 25 Affen-Oesophagus Objektträger mit 10-Auftragsstellen           |
| <b>504255.25</b> | 25 Mehrkanal Affen-Oesophagus Objektträger mit 10-Auftragsstellen |

## Zusätzliches benötigtes Material

Destilliertes Wasser zum Verdünnen des PBS-Pufferkonzentrats.

Behälter für PBS-Puffer.

Mikropipetten und Einmal-Spitzen zum Pipettieren von Patientenproben.

Feuchte Kammer für die Inkubation

Spritzflasche für Waschen mit PBS-Puffer

Zusätzliche Bestandteile können Auftrag von sein INOVA Diagnostics, PBS (508002), IFA System Negative Kontrolle (508186), Pemphigus-Positivkontrolle (504051), Pemphigoid-Positivkontrolle (504055), Endomysium-Positivkontrolle (504050), IgG-(H&L), FITC-Konjugat (affenadsorbiert) (504011, 504071), anti-human-IgA-( $\alpha$ -Kette)-FITC-Konjugat (504023, 504045), anti-human-IgA-( $\alpha$ -Kette)-FITC-Konjugat (affenadsorbiert), (504015), 1% Evans-Blue (504049) and Eindeckmedium (508001, 508005, 508006).

## Testdurchführung

### Qualitätskontrolle

Positive und negative Kontrollen sollten bei jedem Testansatz mitgeführt werden.

1. **PBS Konzentrat verdünnen.** PBS-Konzentrat mit destilliertem Wasser (1 Teil PBS-Konzentrat + 39 Teile destilliertes Wasser) verdünnen und mischen. Hinweis: Nur das gesamte Pufferkonzentrat verdünnen, wenn der Kit innerhalb von einem Monat verbraucht wird. Der gebrauchsfertige PBS-Puffer wird zum verdünnen der Patientenseren und als Waschpuffer verwendet.

2. **Patientenserum verdünnen.** Patientenserum mit PBS-Puffer 1/10 verdünnen, z.B. 20µL Serum + 180µL PBS-Puffer.
3. **Substrat-Objektträger vorbereiten.** Die Objektträger vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-28°C) erwärmen lassen. Folienbeutel erst direkt vor Gebrauch öffnen! Die Objektträger aus dem Folienbeutel nehmen, entsprechend beschriften und in eine feuchte Kammer geben. Je ein Tropfen der Kit-Kontrollen und je 50µL der verdünnten Patientenserum auf die jeweiligen Felder pipettieren.
4. **Inkubation der Objektträger.** Die Objektträger 30 Minuten bei Raumtemperatur (18-28°C) in der feuchten Kammer inkubieren. (Angefeuchtete Papiertücher auf dem Kammerboden sorgen für ausreichende Feuchtigkeit.)
5. **Waschen mit PBS.** Die Objektträger aus der feuchten Kammer nehmen und rasch mit PBS-Puffer (Spritzflasche) waschen, dabei nicht direkt in die Auftragsfelder spritzen. Die Objektträger in eine Halterung geben und in ein PBS-Pufferbad eintauchen und 5-10 Minuten im PBS-Pufferbad belassen, dabei leicht rühren oder schütteln.
6. **Zugabe von Fluoreszenz-Konjugat.** Überschüssigen PBS-Puffer abschütteln und die Objektträger mit dem mitgelieferten Blotpapier (nur Kits) oder Filterpapier abtrocknen. Die Objektträger wieder in die feuchte Kammer legen und SOFORT, D.H. INNERHALB VON 15 SEC., auf jede Auftragsstelle einen Tropfen des gewünschten Fluoreszenz-Konjugats geben. Für den Nachweis von Haut-Autoantikörpern das Anti-Human-IgG-(H+L)-FITC-Konjugat und für endomysiale Autoantikörper das anti-human-IgA-(α-Kette)-FITC-Konjugat verwenden. Das Austrocknen des Substrats kann das Ergebnis beträchtlich beeinträchtigen.
7. **Inkubation der Objektträger.** Die Objektträger 30 Minuten bei Raumtemperatur (18-28°C) in der feuchten Kammer im Dunkeln inkubieren.
8. **Waschen mit PBS-Puffer.** Erneut waschen wie unter Punkt 5 beschrieben.
9. **Evans Blue.** Wenn eine Gegenfärbung gewünscht wird, können bei diesem Waschschrift 2-3 Tropfen einer 1%igen Evans-Blue-Lösung pro 100mL PBS-Puffer zugegeben werden.
10. **Deckgläschen aufsetzen.** Jeweils nur einen Objektträger aus dem PBS-Pufferbad nehmen. Um die Auftragsstellen herum rasch abtrocknen und jeweils 1 Tropfen Eindeckmedium auf jede Auftragsstelle geben. Das Deckgläschen sorgfältig auf jeden Objektträger legen, wobei Luftbläschen zu vermeiden sind. Eventuell vorhandene Luftblasen nicht versuchen zu entfernen. Überschüssiges Eindeckmedium mit Filterpapier entfernen.  
**Objektträger auswerten (Fluoreszenzmikroskop).** Fertiggestellte Objektträger so schnell wie möglich auswerten. Sie können im Dunkeln bis zu drei Tage 2-8°C ohne signifikanten Fluoreszenzverlust aufbewahrt werden.

## Risultati

### Qualitätskontrolle

Die Positivkontrollen sollten folgende leuchtend-äpfelgrüne Fluoreszenzmuster zeigen: bei Pemphigus Anfärbung des Zementins des mehrschichtigen Plattenepithels (Hühnerzaun-Muster) und bei endomysialen Autoantikörpern Anfärbung der "Retikulin-ähnlichen" Fasern, die die glatte Muskulatur im Bindegewebe umgeben. Die Negativkontrolle zeigt eine matt-grüne Anfärbung des Gewebes ohne erkennbare Fluoreszenz.

Erscheint eine der Kontrollen nicht wie beschrieben, sollte der Testansatz verworfen werden und ein neuer Ansatz gemacht werden.

### Interpretation der Ergebnisse

In Referenz 5 sind farbige Fotos mit Beispielen für diese Muster abgebildet. Die Ergebnisse werden als positiv oder negativ angegeben.

#### Pemphigus-Autoantikörper

Fluoreszenz-Färbung des Zementins des mehrschichtigen Plattenepithels.

#### Pemphigoid-Autoantikörper

Fluoreszenzfärbung der epidermalen Basalmembran (EBM) entlang der dermo-epidermalen Junctionszone.

#### Endomysiale Autoantikörper<sup>4</sup>

Fluoreszenzfärbung der 'Retikulin-ähnlichen' Fasern, die die glatte Muskulatur im Bindegewebe umgeben.

Hinweis: Jedes Labor sollte eigene Richtlinien erstellen und festlegen wann ein positives Ergebnis klinisch relevant ist.

### Grenzen des Verfahrens

1. Die im Fluoreszenzmikroskop verwendete Lichtquelle, Filter und Optik beeinflussen die Sensitivität des Tests. Die Qualität des Mikroskops wird maßgeblich durch die korrekte Wartung, speziell durch das Zentrieren der Quecksilberlampe und deren Austausch nach der empfohlenen Brenndauer, beeinflusst.
2. Das Affen-Oesophagus-Gewebe ist unabhängig von dem verwendeten Herstellungsprozess von Natur aus anfällig für Autofluoreszenz. Diese Autofluoreszenz ist in der Lamina propria und den submucosen Regionen besonders ausgeprägt. Deshalb sollten Proben, die schwach positive Fluoreszenzmuster (speziell Endomysium und glatte Muskulatur) in der Muscularis mucosae erzeugen, mit Vorsicht interpretiert werden.

3. Antinukleäre (ANA), antimitochondriale (AMA) Autoantikörper und Autoantikörper gegen die glatte Muskulatur (ASMA) und Skelettmuskel können mit dem Oesophagusgewebe reagieren. Das Vorhandensein dieser Autoantikörper sollte auf geeigneten Substraten bestätigt werden.
4. Kreuzreaktivitäten zu anti-A- und Anti-B-Blutgruppen-Antikörper können auftreten, da die Oesophagusschleimhaut verschiedene Blutgruppen-Antigene enthalten kann<sup>6</sup> Bei einigen Patientenseren kann durch diese Blutgruppen-Antikörper ein Pemphigus-Muster vorgetäuscht werden, wobei aber die Kapillaren in der Oesophagus-Muskulatur ebenfalls angefärbt werden.
5. Aufgrund der nur kleinen Abstände zwischen den Auftragsstellen bei Objektträgern mit 10 Auftragsstellen zwischen den Auftragsstellen besteht eine gewisse Verschleppungsgefahr. Deshalb muss besonders sorgfältig gearbeitet werden, speziell beim Waschen, um eine Verschleppung zu vermeiden.
6. Dieser Test allein ist nicht als diagnostischer Beweis ausreichend. Alle Ergebnisse sollten immer nur im Zusammenhang mit anderen Laborbefunden und dem klinischen Bild des Patienten betrachtet werden.
7. Die Verwendung dieser Produkte mit IFT-Reagenzien anderer Hersteller wurde nicht überprüft, ist aber nicht zwangsläufig ausgeschlossen.

Beachten Sie bitte, dass diese Objektträger ein anderes Format aufweisen als die, die für den Haupteinsatz beschrieben wurden; sie sind mit Mehrkanalpipetten kompatibel. Dies wirkt sich nur auf die Position der Wells aus. Sämtliche anderen technischen und Leistungsdaten der Objektträger ändern sich nicht.

Separat verkaufte Objektträger sind als „Analytische Reagenzien“ klassifiziert. Die analytischen und leistungsbezogenen Eigenschaften wurden lediglich als Bestandteil des kits untersucht.

## Erwartungswerte

Affen-Oesophagus-Objektträgern wurden Seren von Patienten mit Pemphigus- und Pemphigoid-Erkrankungen und 20 Seren von willkürlich ausgewählten gesunden Blutspendern getestet. Es wurden folgende Ergebnisse erhalten.

Patienten Gruppe	Anzahl	Anzahl positive	
		Interzellulär	Basalmembran
Pemphigus	12	12	0
Pemphigoid	11	0	9
Gesunde	20	0	0

## IgA endomysiale Antikörper

Patienten/Diagnose	Positiv/ Gesamtmenge	% Gesamtmenge
<b>Bestätigte Zöliakie</b>		
Mit glutenhaltiger Nahrung	38/38	100
Mit gluten-freier Diät	17/37	46
<b>Verdacht auf Zöliakie</b>		
Mit glutenhaltiger Nahrung	27/30	90
Mit gluten-freier Diät	5/30	17
<b>Dermatitis Herpetiformis (Gesamtmenge)</b>	203/253	80
(teilsunne) bestätigte villöse Atrophie	42/42	100
<b>Gesunde Blutspender</b>	0/87	0
<b>Kontrollgruppe mit Erkrankungen im Gastro Intestinaltrakt)</b>		
Colitis Ulcerosa	0/59	0
Morbus Crohn	0/41	0
Lebererkrankungen	0/20	0
Infektiöse Diarrhoe	0/210	0
Toddlers Diarrhoe	0/170	0
Rezidivierende Diarrhoe	0/124	0
Milcheiweiß-Empfindlichkeit	0/60	0
<b>Kontrollgruppe Hauterkrankungen</b>		
Lineare IgA bullöse Dermatitis	0/41	0
Nicht-Dermatitis herpetiformis Hauterkrankungen	0/180	0

Diese Daten wurden verschiedenen Studien entnommen, Chorzelski *et al* 1990<sup>7</sup>

## Spezifische Leistungs-Daten

Eine Vergleichsstudie mit 43 Seren (35 klinische und 8 normale Spender) wurde mit diesem Kit und zwei anderen kommerziell erhältlichen Methoden, eine zum Nachweis von Pemphigus und Pemphigoid-Autoantikörpern, die andere zum Nachweis von endomysialen Autoantikörpern, durchgeführt. Insgesamt wurde eine gute Übereinstimmung von allen Kits gefunden. Pemphigus: 10 von 13 Proben waren mit beiden Kits positiv, zwei der unterschiedlich bewerteten Proben waren grenzwertig-positiv mit dem Pemphigoid: Alle 4 getesteten Seren ergaben übereinstimmende Ergebnisse, wobei die Fluoreszenz bei der alternativen Methode etwas schwächer war. Endomysiale Autoantikörper: Alle 18 getestete Proben waren mit beiden Methoden positiv. Die 8 normalen Proben wurden mit allen drei Methoden als negativ befunden.

## Kurzarbeitsanleitung

1. PBS-Pufferkonzentrat mit destilliertem Wasser verdünnen.
2. Patientenserum 1/10 mit PBS-Puffer verdünnen.
3. Objektträger auf Raumtemperatur erwärmen lassen (18-28°C).
4. 50µL der Positiv- und der Negativkontrollen und 50µL der verdünnten Patientenseren auftragen.
5. Inkubation: 30 min in einer feuchten Kammer.
6. 5-10 min in PBS-Puffer waschen.
7. Objektträger um die Auftragsstellen herum abtrocknen und sofort auf jede Auftragstelle 1 Tropfen Konjugat geben.
8. Wie unter Punkt 5 beschrieben inkubieren (abdunkeln).
9. Wie unter Punkt 6 beschrieben waschen.
10. Eindeckmedium auftropfen.
11. Objektträger unter dem Fluoreszenzmikroskop auswerten.

NOVA Lite und INOVA Diagnostics sind eingetragene Marken. Copyright 2011. Alle Rechte vorbehalten©

## Referenzen

1. Sacchetti L, Ferrajolo A et al. (1996): Diagnostic value of various serum antibodies detected by diverse methods in childhood coeliac disease. *Clinical Chemistry* **42**: 11; 1838 – 1842.
2. Sategna-Guidetti C et al. (1995): Comparison of serum anti-gliadin, anti-endomysium and anti-jejunum antibodies, in adult celiac sprue. *J. Clin. Gastroenterol.* **20** (1) 17 – 21.
3. Weller, T H, Coons, A H. (1954): Fluorescent antibody studies with agent of Varicella and Herpes Zoster propagated in vitro: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **86**: 789-794.
4. Hallstrom, O. (1989): Comparison of IgA class reticulin and endomysium antibodies in coeliac disease dermatitis herpetiformis *Gut.* **30**: 1225-1232.
5. Bradwell A R et al. (1999): *Advanced atlas of autoantibody patterns on tissues.* Pub: The Binding Site Ltd., Birmingham UK.
6. Szulman A E. (1962): The histological distribution of blood group substances A and B in man. *J. Exp. Med.* **115**: 977
7. Chorzeliski, T P et al. (1990): *Serologic Diagnosis of Celiac Disease.* CRC Press Boca Raton.
8. *Protein Reference Handbook of Autoimmunity (3<sup>rd</sup> Edition) 2004.* Ed. A Milford Ward, GD Wild. Publ. PRU Publications, Sheffield. 14.

Hersteller:

INOVA Diagnostics, Inc.  
9900 Old Grove Road  
San Diego, CA 92131  
United States of America

Technical Service (U.S. & Canada Only) : 877-829-4745  
Technical Service (Outside the U.S.) : 00+ 1 858-805-7950  
[support@inovadx.com](mailto:support@inovadx.com)

Autorisierter Repräsentant:

Medical Technology Promedt Consulting GmbH  
Altenhofstrasse 80  
D-66386 St. Ingbert, Germany  
Tel.: +49-6894-581020  
Fax.: +49-6894-581021  
[www.mt-procons.com](http://www.mt-procons.com)

624145DEU

April 2011  
Revision 1

