

Κωδικός Προϊόντος: 704145, 704150, 704155, 704255
504145, 504145.10, 504150, 504150.25
504155.25, 504255.25

CLIA σύνθετος: ψηλός

Σκοπό Χρήση

Κατεψυγμένες τομές οισοφάγου πιθήκου ενδείκνυνται για χρήση ως υπόστρωμα για την ανίχνευση αντισωμάτων κατά των ενδο-επιδερμικών αντιγόνων ή βασικών μεμβρανών στον ανθρώπινο ορό, ως βοήθημα στη διάγνωση του πέμφυγος και του φλυκτενώδους πεμφυγοειδούς, αντιστοίχως. Οι τομές μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν υποβοηθητικά για την ανίχνευση αντισωμάτων κατά του ενδομυσίου, στη διάγνωση κοιλιοκάκης.

Περιληψη Και Αρχη Μεθοδου

Τα ενδο-επιδερμικά αντισώματα IgG που χαρακτηρίζουν ποικίλες κλινικές μορφές του πέμφυγος, αντιδρούν με τα αντιγόνα που βρίσκονται στην κυτταρική επιφάνεια των επιδερμικών κερατινοκυττάρων. Ένα θετικό αποτέλεσμα δίνει μια χαρακτηριστική διάταξη χρώσης ρομβοειδούς-δικτυοειδούς μορφής (chicken wire). Ιστική εναπόθεση ανοσοσφαιρίνης παρατηρείται σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις. Συνιστάται πάντα η εξέταση αμφοτέρων, του ιστού και του ορού του ασθενούς, για την φλυκτενώδη νόσο. Τα αντισώματα κατά βασικών μεμβρανών βρίσκονται κατά κανόνα στη φλυκτενώδη νόσο του πεμφυγοειδούς. Στην προκείμενη νόσο μια άμεση βιοψία αποκαλύπτει γραμμική διάταξη εναπόθεσης IgG και C3 κατά μήκος της δερμο-επιδερμικής σύνδεσης. Τέτοια αυτοαντισώματα είναι συνήθως παρόντα στον ορό προσβεβλημένων ασθενών, πλην όμως, όχι πάντα. Εντούτοις, ο τίτλος αντισωμάτων δεν σχετίζεται με κατάσταση νόσου και στην κλινική ύφεση της νόσου, το αντίσωμα ενδέχεται να είναι ακόμη παρόν και στους ιστούς και στον ορό.

Ένα σύζευγμα αντι-ανθρώπινης IgG (H&L) FITC παρέχεται σ'αυτό το διαγνωστικό σύνολο για να επιδείξει και τα δύο αυτά αυτοαντισώματα.

Τα αντισώματα κατά ενδομυσίου κατευθύνονται εναντίον ινών τύπου ρετικουλίνης, στον συνδετικό ιστό γύρω από τις λείες μυϊκές ίνες στις εντερικές οδούς των πιθήκων. Έχει αναφερθεί μια σχεδόν 100% ευαισθησία και ειδικότητα για τα αντισώματα κατά ενδομυσίου τάξης IgA, τα οποία είναι ενεργά στη νόσο Κοιλιοκάκη.^{1,2} Αυτά τα αντισώματα ανιχνεύονται με το χορηγούμενο αντι-ανθρώπινο IgA FITC σύζευγμα.

Αρχη Μεθοδου

Το διαγνωστικό σύνολο χρησιμοποιεί τεχνική έμμεσου ανοσοφθορισμού³ οπότε δείγματα ασθενών και κατάλληλοι οροί ελέγχου επωάζονται με τα κατεψυγμένα τμήματα. Τα μη αντιδρώντα αντισώματα εκπλένονται και στη συνέχεια διανέμονται κατάλληλα συζεύγματα σημασμένα με φλουορεσκεΐνη. Το αδέσμευτο σύζευγμα εκπλένεται όπως και προηγουμένως. Οι πλάκες διαβάζονται με μικροσκόπιο φθορισμού. Τα θετικά δείγματα εμφανίζουν φθορισμό πράσινου- του- μήλου, ο οποίος αντιστοιχεί σε περιοχές του κατεψυγμένου τμήματος όπου έχει δεσμευτεί το αυτοαντίσωμα.

Αντιδραστηρια

1. Οισοφάγος του πίθηκου Πλάκες σε 5 ή 10 θέσεων, με desiccant

704145 και 704150 Διαγνωστικά σύνολα μόνο:

2. Δύο θετικοί οροί ελέγχου (από ανθρώπινο ορό), εκ των οποίων ο ένας δίνει διάταξη χρώσης ρομβοειδούς-δικτυοειδούς μορφής (chicken wire) πέμφυγος και ο άλλος διάταξη ενδομυσίου «τύπου ρετικουλίνης» πάνω σε τομές οισοφάγου. περιέχων 0,09% νατραζίδιο. **Προ-αραιωμένοι, έτοιμοι για χρήση.**
3. Αρνητικός ορός ελέγχου, αρνητικός για όλα τα αυτοαντισώματα. περιέχων 0,09% νατραζίδιο. **Προ-αραιωμένος έτοιμος για χρήση.**
4. Αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών - ορού (PBS), παρεχόμενο συμπυκνωμένο x 40 φορές σε υγρή μορφή.
5. Σύζευγμα με φλουορεσκεΐνη αντι-ανθρώπινης IgG (H&L), προβάτου (αφομοιωμένο από πίθηκο) κεκαθαμένης με χρωματογραφία χημικής συγγένειας και σύζευγμα με φλουορεσκεΐνη αντι-ανθρώπινης IgA. περιέχων 0,09% νατραζίδιο. **Προ-αραιωμένο έτοιμο για χρήση.**
6. 1% Evans Blue, ως προαιρετική αντιχρωστική.
7. Στυπτικές ταινίες.
8. Υλικό συγκόλλησης, περιέχων έναν αντι-αλλοιωτικό παράγοντα χρώσης
9. Καλυπτρίδες.

704155 Διαγνωστικά σύνολο μόνο:

2. θετικοί οροί ελέγχου (από ανθρώπινο ορό), άλλος διάταξη ενδομυσίου «τύπου ρετικουλίνης» πάνω σε τομές οισοφάγου. περιέχων 0,09% νατραζίδιο. **Προ-αραιωμένοι, έτοιμοι για χρήση.**
3. Αρνητικός ορός ελέγχου, αρνητικός για όλα τα αυτοαντισώματα. περιέχων 0,09% νατραζίδιο. **Προ-αραιωμένος έτοιμος για χρήση.**
4. Αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών - ορού (PBS), παρεχόμενο συμπυκνωμένο x 40 φορές σε υγρή μορφή.
5. Με φλουορεσκεΐνη αντι-ανθρώπινης IgA. περιέχων 0,09% νατραζίδιο. **Προ-αραιωμένο έτοιμο για χρήση.**
6. 1% Evans Blue, ως προαιρετική αντιχρωστική.
7. Στυπτικές ταινίες.

8. Υλικό συγκόλλησης, περιέχον έναν αντι-αλλοιωτικό παράγοντα χρώσης
9. Καλυπτρίδες.

704255 Διαγνωστικά σύνολο μόνο:

Λάβετε υπόψη ότι αυτά τα πλακίδια έχουν διαφορετική μορφή σε σχέση με τα πλακίδια που περιγράφονται στο κύριο ένθετο, δεδομένου ότι αυτά είναι συμβατά με πιπέτα πολλαπλών καναλιών. Αυτό επηρεάζει μόνο τη θέση των κοιλοτήτων. Όλα τα άλλα τεχνικά χαρακτηριστικά και χαρακτηριστικά επιδόσεων των πλακιδίων παραμένουν ίδια.

1. Οισοφάγος του πίθηκου Πλάκες σε πολλαπλών καναλιών 10 θέσεων, με desiccant
2. Θετικοί οροί ελέγχου (από ανθρώπινο ορό), άλλος διάταξη ενδομυσίου «τύπου ρετικουλίνης» πάνω σε τομές οισοφάγου. περιέχων 0,09% νατραζίδιο. **Προ-αραιωμένοι, έτοιμοι για χρήση.**
3. Αρνητικός ορός ελέγχου, αρνητικός για όλα τα αυτοαντισώματα. περιέχων 0,09% νατραζίδιο. **Προ-αραιωμένος έτοιμος για χρήση.**
4. Αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών - ορού (PBS), παρεχόμενο συμπυκνωμένο x 40 φορές σε υγρή μορφή.
5. Με φλουορεσκεΐνη αντι-ανθρώπινης IgA. περιέχων 0,09% νατραζίδιο. **Προ-αραιωμένο έτοιμο για χρήση.**
6. 1% Evans Blue, ως προαιρετική αντιχρωστική.
7. Στυπτικές ταινίες.
8. Υλικό συγκόλλησης, περιέχον έναν αντι-αλλοιωτικό παράγοντα χρώσης
9. Καλυπτρίδες.

Προσοχή/ Ειδικά Μέτρα

Όλοι οι δότες του παρεχομένου ανθρώπινου ορού (μόνο διαγνωστικά σύνολα) εξετάστηκαν και διαπιστώθηκαν αρνητικοί για αντιγόνο επιφανείας Ηπατίτιδας Β και για αντισώματα κατά του ιού Ηπατίτιδας C και του ιού ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV 1 & 2). Εν τούτοις, αυτές οι εξετάσεις δεν μπορούν να εγγυηθούν την απουσία μολυσματικών παραγόντων. Θα πρέπει να προσδιοριστούν κατάλληλες μέθοδοι χρήσης και απόρριψης για όλα τα εν δυνάμει μολυσματικά υλικά και μόνο προσωπικό επαρκώς εκπαιδευμένο σε τέτοιες μεθόδους, επιτρέπεται να διενεργεί τέτοιες διαδικασίες. Τα συστατικά του διαγνωστικού συνόλου περιέχουν 0,09% νατραζίδιο ως συντηρητικό και χρειάζονται προσεκτικό χειρισμό – μην επιτρέψετε να απορροφηθούν ή να έρθουν σε επαφή με το δέρμα ή με τις βλεννογόνους μεμβράνες. Αν εν τούτοις, υπάρξει επαφή, πλύνετε με άφθονο νερό και αναζητήστε ιατρική συμβουλή. Με την επαφή με τον χαλκό και τον μόλυβδο των υδραυλικών σωληνώσεων, ενδέχεται να σχηματιστούν εκρηκτικά μεταλλικά αζίδια· όταν πετάτε το αντιδραστήριο, περιχύστε το με άφθονη ποσότητα νερού ούτως ώστε να αποφευχθεί ο σχηματισμός αζιδίων. Αυτό το προϊόν πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από κατάλληλα εκπαιδευμένα άτομα για τους προαναφερθέντες λόγους. Συνιστάται προσκόλληση στην δεδομένη διαδικασία.

Αποθήκευση

Αποθηκεύστε τα αντιδραστήρια και πλάκες 2-8°C. Να μην παγώνουν. Είναι σταθερά για χρήση μέχρι τη λήξη τους εάν αποθηκεύονται σύμφωνα με τις οδηγίες. Το αραιωμένο PBS διάλυμα πλύσης είναι σταθερό για τέσσερα εβδομάδα στους 2-8°C.

Δείγματα

Τα δείγματα αίματος πρέπει να συλλεχθούν με αιμοληψία να αφεθούν να πήξουν με φυσικό τρόπο και ο ορός να διαχωριστεί το συντομότερο δυνατόν για να αποτραπεί η αιμόλυση. Ο ορός μπορεί να φυλάσσεται στους 2-8°C για έως και 7 ημέρες πριν την εξέταση⁸ ή για παρατεταμένη φύλαξη να μοιράζεται σε σωληνάρια και να φυλάσσεται στους -20°C ή χαμηλότερα. Επαναλαμβανόμενη κατάψυξη και απόψυξη θα πρέπει να αποφεύγεται. Αποφύγετε την χρήση ορών λιπαιμικών, αιμολυμένων ή μικροβιακά μολυσμένων, διότι μπορεί να προκύψουν μειωμένοι τίτλοι ή μη καθαρές διατάξεις χρώσης.

Διαδικασία

Υλικά που παρέχονται (διαγνωστικά σύνολα)

704145

1. 10 x *Monkey Oesophagus – 5-well slide* (Οισοφάγος πίθηκου - αντικειμενοφόρα πλάκα 5 βυθισμάτων)
2. 1 x 1mL *Pemphigus Positive Control* (Θετικός ορός ελέγχου πέμφυγος, προ-αραιωμένος)
3. 1 x 1mL *Endomysial (Celiac) Positive Control* (Θετικός ορός ελέγχου ενδομυσίου (κοαλιοκάκη), προ-αραιωμένος)
4. 1 x 1mL *IFA System Negative Control* (IFA Αρνητικός ορός ελέγχου, προ-αραιωμένος)
5. 1 x 7mL *FITC IgG (H&L), monkey adsorbed Conjugate* (αντι-ανθρώπινη IgG (H&L) FITC, αφομοιωμένο από πίθηκο)
6. 1 x 7mL *Anti-human IgA (α) AFF FITC* (Σύζευγμα αντι-ανθρώπινης IgA (α αλύσου) AFF FITC)
7. 1 x 3mL *1% Evans Blue Counterstain* (1% Evans Blue αντιχρωστική)
8. 2 x 25mL *PBS concentrate (x40)* (Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών ορού (PBS) συμπυκνωμένο, x40)
9. 1 x 3mL *Mounting Medium* (Υλικό συγκόλλησης)
10. 20 x *Blotters* (Στυπτικές ταινίες)
11. 10 x *Coverslips* (Καλυπτρίδες)
12. 1 x εγχειρίδιο χρήσης

704150

1. 25 x *Monkey Oesophagus – 10-well slide* (Οισοφάγος πίθηκου - αντικειμενοφόρα πλάκα 10 βυθισμάτων)
2. 1 x 1mL *Pemphigus Positive Control* (Θετικός ορός ελέγχου πέμφυγος, προ-αραιωμένος)
3. 1 x 1mL *Endomysial (Celiac) Positive Control* (Θετικός ορός ελέγχου ενδομυσίου (κοιλιοκάκη), προ-αραιωμένος)
4. 1 x 1mL *IFA System Negative Control* (IFA Αρνητικός ορός ελέγχου, προ-αραιωμένος)
5. 1 x 15mL *FITC IgG (H&L), monkey adsorbed Conjugate* (αντι-ανθρώπινη IgG (H&L) FITC, αφομοιωμένο από πίθηκο)
6. 1 x 15mL *Anti-human IgA (α) AFF FITC* (Σύζευγμα αντι-ανθρώπινης IgA (α αλύσου) AFF FITC)
7. 1 x 3mL *1% Evans Blue Counterstain* (1% Evans Blue αντιχρωστική)
8. 2 x 25mL *PBS concentrate (x40)* (Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών ορού (PBS) συμπυκνωμένο, x40)
9. 1 x 10mL *Mounting Medium* (Υλικό συγκόλλησης)
10. 50 x *Blotters* (Στυπτικές ταινίες)
11. 25 x *Coverslips* (Καλυπτρίδες)
12. 1 x εγχειρίδιο χρήσης

704155

1. 25 x *Monkey Oesophagus – 10-well slide* (Οισοφάγος πίθηκου - αντικειμενοφόρα πλάκα 10 βυθισμάτων)
2. 1 x 1mL *Endomysial (Celiac) Positive Control* (Θετικός ορός ελέγχου ενδομυσίου (κοιλιοκάκη), προ-αραιωμένος)
3. 1 x 1mL *IFA System Negative Control* (IFA Αρνητικός ορός ελέγχου, προ-αραιωμένος)
4. 2 x 15mL *Anti-human IgA Fluorescein Conjugate* (Σύζευγμα αντι-ανθρώπινης IgA)
5. 1 x 3mL *1% Evans Blue Counterstain* (1% Evans Blue αντιχρωστική)
6. 2 x 25mL *PBS concentrate (x40)* (Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών ορού (PBS) συμπυκνωμένο, x40)
7. 1 x 10mL *Mounting Medium* (Υλικό συγκόλλησης)
8. 50 x *Blotters* (Στυπτικές ταινίες)
9. 25 x *Coverslips* (Καλυπτρίδες)
10. 1 x εγχειρίδιο χρήσης

704255

Λάβετε υπόψη ότι αυτά τα πλακίδια έχουν διαφορετική μορφή σε σχέση με τα πλακίδια που περιγράφονται στο κύριο ένθετο, δεδομένου ότι αυτά είναι συμβατά με πιπέτα πολλαπλών καναλιών. Αυτό επηρεάζει μόνο τη θέση των κοιλοτήτων. Όλα τα άλλα τεχνικά χαρακτηριστικά και χαρακτηριστικά επιδόσεων των πλακιδίων παραμένουν ίδια.

1. 25 x *Monkey Oesophagus – 10-well Multi-channel slide* (Οισοφάγος πίθηκου - πολλαπλών καναλιών αντικειμενοφόρα πλάκα 10 βυθισμάτων)
2. 1 x 1mL *Endomysial (Celiac) Positive Control* (Θετικός ορός ελέγχου ενδομυσίου (κοιλιοκάκη), προ-αραιωμένος)
3. 1 x 1mL *IFA System Negative Control* (IFA Αρνητικός ορός ελέγχου, προ-αραιωμένος)
4. 2 x 15mL *Anti-human IgA Fluorescein Conjugate* (Με φλουορεσκεΐνη αντι-ανθρώπινης IgA IgA)
5. 1 x 3mL *1% Evans Blue Counterstain* (1% Evans Blue αντιχρωστική)
6. 2 x 25mL *PBS concentrate (x40)* (Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών ορού (PBS) συμπυκνωμένο, x40)
7. 1 x 10mL *Mounting Medium* (Υλικό συγκόλλησης)
8. 25 x *Coverslips* (Καλυπτρίδες)
9. 1 x εγχειρίδιο χρήσης

Παρεχόμενα υλικά (αντικειμενοφόρες πλάκες)

504145	1 x Οισοφάγος του πίθηκου, 5 βυθισμάτων
504145	10 x Οισοφάγος του πίθηκου, 5 βυθισμάτων
504150	1 x Οισοφάγος του πίθηκου, 10 βυθισμάτων
504150.25	25 x Οισοφάγος του πίθηκου, 10 βυθισμάτων
504155.25	25 x Οισοφάγος του πίθηκου, 10 βυθισμάτων
504155.25	25 x Οισοφάγος του πίθηκου, 10 βυθισμάτων
504255.25	25 x Οισοφάγος του πίθηκου, 10 βυθισμάτων

Αντιδραστήρια και εξοπλισμός που δεν συμπεριλαμβάνονται

Αποσταγμένο νερό για την αραιώση του συμπυκνωμένου PBS

Δοχείο για το ρυθμιστικό PBS

Μικροπιπέτες και ρύγχη μιάς χρήσης για τα δείγματα των ασθενών

Υγρός θάλαμος για τα στάδια της επώασης

Μικροσκόπιο φθορισμού με φίλτρο διέγερσης σε μήκος κύματος 495nm και με φίλτρο φραγής σε μήκος κύματος 515nm.

Πλαστικό μπουκάλι για την αρχική πλύση με PBS

Πρόσθετα συστατικά μπορούν να αποκτηθούν από την INOVA Diagnostics : PBS (508002), IFA Αρνητικός ορός ελέγχου (508186), Θετικός ορός ελέγχου πέμφυγος (504051), θετικός ορός ελέγχου πεμφυγοειδούς (504055), θετικός ορός ελέγχου ενδομυσίου (504050), σύζευγμα FITC (H+L), αφομοιωμένης από πίθηκο (504011, 504071), σύζευγμα αντι-ανθρώπινης IgA (α αλύσου) (504023, 504045), σύζευγμα αντι-ανθρώπινης IgA (α αλύσου) αφομοιωμένης από πίθηκο (504015), 1% Evan's Blue (504049) και υλικό συγκόλλησης (508001, 508005, 508006).

Διαδικασία εξέτασης

Ποιοτικός έλεγχος

Θετικοί και αρνητικοί οροί ελέγχου είναι απαραίτητο να χρησιμοποιούνται κάθε φορά που γίνεται έλεγχος δειγμάτων.

- 1. Αραίωση του συμπυκνωμένου PBS.** Αραιώνετε το συμπυκνωμένο PBS με αποσταγμένο νερό (1 μέρος συμπυκνωμένου PBS + 39 μέρη αποσταγμένου νερού) και ανακατεύετε. ΣΗΜ.: Χρησιμοποιείστε όλη την ποσότητα PBS που περιέχεται στο διαγνωστικό σύνολο εάν πρόκειται να χρησιμοποιήσετε το Διαγνωστικό Σύνολο σε διάστημα ενός μήνα. Το PBS χρησιμοποιείται για τη αραίωση των δειγμάτων των ασθενών και επίσης ως πλυστικό διάλυμα.
- 2. Αραίωση δειγμάτων των ασθενών.** Αραιώστε τα δείγματα των ασθενών 1/10 προσθέτοντας 20μL ορού σε 180μL διαλύματος PBS.
- 3. Αντικειμενοφόρες πλάκες.** Αφήστε τις αντικειμενοφόρες πλάκες να φτάσουν σε θερμοκρασία δωματίου (18-28°C) πριν τις βγάλετε από τις θήκες τους. Σημάνετε τις κατάλληλως, τοποθετείστε τις στον υγρό θάλαμο και στάξτε μία σταγόνα από κάθε θετικό και αρνητικό ορό ελέγχου στα κατάλληλα βυθίσματα. Προσθέστε 50μL των αραιωμένων δειγμάτων στα εναπομείναντα βυθίσματα.
- 4. Επώαση αντικειμενοφόρων πλακών.** Επώαστε τις πλάκες για 30 λεπτά σε έναν υγρό θάλαμο σε θερμοκρασία δωματίου (18-28°C). (Υγρές χαρτοπετσέτες στη βάση του θαλάμου θα διατηρήσουν την υγρασία.)
- 5. Πλύσιμο με PBS.** Αφαιρείτε τις πλάκες από τον υγρό θάλαμο και ξεπλένετε λίγο με PBS. Μην εκτοξεύετε απ' ευθείας πάνω στα βυθίσματα. Τοποθετείτε τις πλάκες σε μία βάση/θήκη και βυθίζετε σε PBS και ανακινείτε ή ανακατέψτε για 5-10 λεπτά.
- 6. Προσθήκη του φθορίζοντος συζεύγματος.** Τινάζετε το υπερβάλλον PBS και στεγνώστε τα βυθίσματα χρησιμοποιώντας τις στυπτικές ταινίες που παρέχονται. Επιστρέψτε τις πλάκες στον υγρό θάλαμο και αμέσως καλύψτε κάθε βύθισμα με μία σταγόνα φθορίζοντος συζεύγματος. Η αντι-ανθρώπινη IgG (H&L) FITC χρησιμοποιείται για την ανίχνευση αυτοαντισωμάτων κατά του δέρματος και η αντι-ανθρώπινη IgA (α αλύσου) FITC για την ανίχνευση αυτοαντισωμάτων κατά ενδομυσίου. ΜΗΝ ΑΦΗΝΕΤΕ ΤΑ ΒΥΘΙΣΜΑΤΑ ΑΚΑΛΥΠΤΑ ΓΙΑ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΑΠΟ 15 ΔΕΥΤΕΡΟΛΕΠΤΑ.
- 7. Επώαση πλακών.** Επώαστε για 30 λεπτά σε υγρό θάλαμο σε θερμοκρασία δωματίου (18-28°C) στο σκοτάδι.
- 8. Πλύσιμο με PBS.** Πλύνετε ξανά όπως περιγράφηκε στο βήμα 5.
- 9. Προαιρετική αντιχρωστική.** Προσθέστε 2-3 σταγόνες Evans Blue 1% ανά 100mL του PBS προ της βύθισης της αντικειμενοφόρου πλάκας.
- 10. Συγκόλληση με καλυπτρίδα.** Μετακινήστε μια -μια τις πλάκες από το πλυστικό PBS. Στεγνώστε γρήγορα την περιοχή γύρω από τα βυθίσματα και προσθέστε μια σταγόνα υλικού συγκόλλησης σε κάθε βύθισμα. Με προσοχή χαμηλώστε την πλάκα πάνω στην καλυπτρίδα, αποφεύγοντας τον σχηματισμό φυσαλίδων, αν ωστόσο, συμβεί κάτι τέτοιο, μην προσπαθήσετε να τις αφαιρέσετε. Σκουπίστε το υπερβάλλον υλικό γύρω από το χείλος της καλυπτρίδας.
- 11. Διαβάστε τις πλάκες με μικροσκόπιο φθορισμού.** Οι πλάκες μπορούν να αποθηκευθούν επί έως 3 ημέρες σε θερμοκρασία 2-8°C, στο σκοτάδι, χωρίς σημαντική απώλεια φθορισμού.

Αποτελέσματα

Ποιοτικός έλεγχος

Οι θετικοί οροί ελέγχου δίνουν μια χρώση πράσινη- του- μήλου στην μεσοκυττάρια ουσία του κυτταρικού επιθηλίου (διάταξη χρώσης ρομβοειδούς-δικτυοειδούς μορφής (chicken wire)), για τον πέμφυγγο, και ίνες «τύπου ρετικούλινης» στον συνδετικό ιστό γύρω από τον λείο μυ, για τον ορό ελέγχου του ενδομυσίου. Ο αρνητικός ορός ελέγχου εμφανίζει θολή πράσινη χρώση σε όλον τον ιστό, χωρίς διακριτό φθορισμό. Αν οι οροί ελέγχου δεν εμφανισθούν όπως περιγράφηκαν παραπάνω, η εξέταση είναι άκυρη και θα πρέπει να επαναληφθεί.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Βλέπε αν. 5 για έγχρωμα φωτογραφικά παραδείγματα των διατάξεων. Τα αποτελέσματα αναφέρονται ως θετικά ή αρνητικά.

Θετικό αντίσωμα πέμφυγγος

Χρώση της μεσοκυττάριας ουσίας του πλακώδους επιθηλίου.

Θετικό αντίσωμα πεμφυγγοειδούς

Χρώση της βασικής μεμβράνης κατά μήκος του δερμο-επιδερμικού συνδέσμου

Θετικό αντίσωμα ενδομυσίου⁴

Χρώση των ινών τύπου ρετικούλινης στον συνδετικό ιστό γύρω από τις λείες μυϊκές ίνες.

ΣΗΜ: Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να προσδιορίσει το σημείο στο οποίο ένα θετικό αποτέλεσμα θεωρείται κλινικά σημαντικό.

Περιορισμοί της διαδικασίας

1. μικροσκοπίων φθορισμού, επηρεάζουν την ευαισθησία της ανάλυσης. Η απόδοση του μικροσκοπίου επηρεάζεται σημαντικά από την σωστή συντήρηση του και ιδιαίτερα από το σωστό κεντράρισμα της λυχνίας ατμού ιωδίου, και από την αλλαγή της λυχνίας μετά από την συνιστώμενη χρονική περίοδο.
2. Ο ιστός οισοφάγου πιθήκου είναι εγγενώς επιρρεπής σε αυτοφθορισμό, ανεξαρτήτως από την διαδικασία παραγωγής των αντικειμενοφόρων πλακών ιστού που ακολουθείται. Αυτό τείνει να είναι περισσότερο εμφανές στον χαλαρό πεταλοειδή αποκλειστικό συνδετικό ιστό του βλενογόνου και στις υποβλενογονίους περιοχές. Συνεπώς θα πρέπει να δίδεται προσοχή στην ερμηνεία των δειγμάτων που δίνουν ασθενώς θετική διάταξη χρώσης στο μυϊκό βλενογόνο π.χ. χρώση του ενδομυσίου και των λείων μυών.
3. Αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA), Αντισώματα κατά των Μιτοχονδρίων (AMA), Αντισώματα κατά Λείων Μυϊκών Ινών (ASMA) και αντισώματα κατά σκελετικών μυών, μπορεί να αντιδράσουν με το υπόστρωμα του οισοφάγου. Η παρουσία αυτών των αντισωμάτων πρέπει να επιβεβαιωθεί στο κατάλληλο υπόστρωμα.
4. Ίσως παρατηρηθεί διασταυρούμενη αντίδραση οφειλόμενη στα αντισώματα κατά-A και κατά-B ομάδας αίματος, εφόσον ο βλενογόνος του οισοφάγου μπορεί να περιέχει ορισμένες ουσίες της ομάδας αίματος.⁶ Σε κάποιους ασθενείς η διάταξη χρώσης μπορεί να μιμείται τα αντισώματα του πέμφυγγο, παρ' ότι τα αντισώματα κατά της ομάδας αίματος θα χρώσουν επίσης και τα τριχοειδή του μυϊκού συστήματος του οισοφάγου.

- Εξ' αιτίας της μικρής απόστασης μεταξύ των βυθισμάτων στις αντικειμενοφόρες πλάκες των 10 βυθισμάτων, είναι πιθανή η επιμόλυνση των δειγμάτων και των ορών ελέγχου. Πρέπει να δοθεί προσοχή, ειδικά στα στάδια του πλυσίματος, για να διασφαλιστεί ότι κάτι τέτοιο δεν θα συμβεί.
- Η εξέταση αυτή από μόνη της δεν πρέπει να θεωρείται διαγνωστική. Θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη όλοι οι άλλοι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου του κλινικού ιστορικού των ασθενών, καθώς επίσης άλλα αποτελέσματα από ορολογικές εξετάσεις ή βιοψίες.
- Η καταλληλότητα για χρήση με IFA αντιδραστήρια άλλων κατασκευαστών δεν έχει αξιολογηθεί, αλλά τέτοια αντιδραστήρια δεν θα έπρεπε απαραίτητα να αποκλεισθούν.

Λάβετε υπόψη ότι αυτά τα πλακίδια έχουν διαφορετική μορφή σε σχέση με τα πλακίδια που περιγράφονται στο κύριο ένθετο, δεδομένου ότι αυτά είναι συμβατά με πιπέτα πολλαπλών καναλιών. Αυτό επηρεάζει μόνο τη θέση των κοιλοτήτων. Όλα τα άλλα τεχνικά χαρακτηριστικά και χαρακτηριστικά επιδόσεων των πλακιδίων παραμένουν ίδια.

Τα πλακίδια που πωλούνται χωριστά κατηγοριοποιούνται ως "Ειδικά αντιδραστήρια για αναλυτές". Πέραν τις ιδιότητάς του ως συστατικού του Kit, τα χαρακτηριστικά ανάλυσης και επιδόσεων δεν έχουν αποδειχτεί.

Αναμενόμενες Τιμές

Οι αντικειμενοφόρες πλάκες οισοφάγου πιθήκου χρησιμοποιήθηκαν για την εξέταση ασθενών με δερματική νόσο του πέμφυγος και του πεμφυγοειδούς, καθώς και 20 τυχαίων αιμοδοτών. Τα αποτελέσματα ήταν:

Ομάδα ασθενών	Αριθμός	Αριθμός θετικών	
		Μεσοκυτ-τάρια ουσία	Βασική μεμβράνη
Πέμφυγξ	12	12	0
Πεμφυγο-ειδές	11	0	9
Φυσιολογικοί	20	0	0

Αντισώματα κατά ενδομυσίου τάξης IgA

Υποκείμενα / Διάγνωση	Θετικά / Σύνολο	Θετικά %
Επιβεβαιωμένοι με κοιλιόκακη		
Σε γλουτένη	38/38	100
Σε δίαιτα απαλλαγμένη από γλουτένη	17/37	46
Ύποπτοι για κοιλιόκακη		
Σε γλουτένη	27/30	90
Σε δίαιτα απαλλαγμένη από γλουτένη	5/30	17
Ερπητοειδής δερματίτις (σύνολο)	203/253	80
(υπο-σύνολο) επιβεβαιωμένη ατροφία των λαχνών	42/42	100
Φυσιολογικοί αιμοδότες	0/87	0
Ασθενείς μάρτυρες (γαστρο-εντερικό)		
Ελκοειδής Κολίτις	0/59	0
Νόσος του Crohn	0/41	0
Ηπατικές νόσοι	0/20	0
Μολυσματική Διάρροια	0/210	0
Διάρροια Παιδιών (12-14 μηνών)	0/170	0
Υποτροπιάζουσα διάρροια	0/124	0
Ευαισθησία στην πρωτεΐνη του γάλακτος	0/60	0
Ασθενείς μάρτυρες (δερματο-πάθειες)		
Γραμμική IgA Φλυκαινώδης δερματίτις	0/41	0
Μη ερπητοειδείς δερματίτιδες	0/180	0

Στοιχεία συλλεγμένα από διάφορες μελέτες, Chorzeliski *et al.* 1990⁷

Πρόσθετα χαρακτηριστικά της παραγωγής

Μία συγκριτική μελέτη διενεργήθηκε σε 43 δείγματα ορού (35 κλινικά, 8 φυσιολογικά) με την χρήση αυτού του διαγνωστικού συνόλου και δύο εμπορικά διαθέσιμων μεθόδων αναφοράς, μιας για θετικά δείγματα πέμφυγος και πεμφυγοειδούς και της άλλης για θετικά δείγματα ενδομυσίου. Συνολικά υπήρχε καλή συμφωνία μεταξύ όλων των διαγνωστικών συνόλων. Για τον πέμφυγγο, 10 από τα 13 δείγματα διεγνώσθησαν θετικά και με τα δύο διαγνωστικά σύνολα. Δύο από τα ασύμφωνα δείγματα ήταν οριακά θετικά με το Διαγνωστικό Σύνολο αλλά αρνητικά με το διαγνωστικό σύνολο αναφοράς. Για το πεμφυγοειδές, και τα τέσσερα θετικά δείγματα ήταν σε συμφωνία, παρ' ότι η χρώση ήταν ελαφρά ασθενέστερη με το ανταγωνιστικό Διαγνωστικό Σύνολο. Τα εξετασθέντα θετικά δείγματα του ενδομυσίου, και τα δεκαοκτώ, ήταν θετικά και με τις δύο μεθόδους. Τα οκτώ εξετασθέντα φυσιολογικά δείγματα εμφανίστηκαν αρνητικά και με τα τρία διαγνωστικά σύνολα.

Περίληψη της διαδικασίας

1. Αραιώστε το PBS με αποσταγμένο νερό.
2. Αραιώστε τους ορούς των ασθενών 1/10 με PBS.
3. Εξισορροπείστε τις πλάκες με το υπόστρωμα σε θερμοκρασία δωματίου (18-28°C).
4. Διανείμετε 50μL θετικού και αρνητικού ορού ελέγχου και τους αραιωμένους ορούς ασθενών στα κατάλληλα βύθισμα.
5. Επώαστε σε υγρό θάλαμο επί 30 λεπτά.
6. Πλύνετε επί 5-10 λεπτά σε PBS.
7. Σκουπίστε γύρω από κάθε βύθισμα καλά και αμέσως καλύψτε κάθε βύθισμα με μία σταγόνα συζεύγματος.
8. Επώαστε όπως στο βήμα 5.
9. Πλύνετε όπως στο βήμα 6.
10. Συγκολλείστε.
11. Διαβάστε την πλάκα με μικροσκόπιο φθορισμού.

NOVA Lite και INOVA Diagnostics είναι σήματα κατατεθέντα
Πνευματικά δικαιώματα 2011. Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος©

Βιβλιογραφία

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. Chorzelski, T P et al. (1990): *Serologic Diagnosis of Celiac Disease.* CRC Press Boca Raton.
8. *Protein Reference Handbook of Autoimmunity (3rd Edition) 2004.* Ed. A Milford Ward, GD Wild. Publ. PRU Publications, Sheffield. 14.

Κατασκευαστής:

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

Αντιπροσωπευτικός:

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

624145GRC

April 2011
Revision 1

