

Για In Vitro Διαγνωστική Χρήση

Κωδικός Προϊόντος: 704170, 704180
504170.10, 504180.25

CLIA σύνθετος: ψηλός

Σκοπό Χρήση

Αυτό το προϊόν προορίζεται για χρήση στην ανίχνευση και στην τιτλοποίηση κυκλοφορούντων αυτοαντισωμάτων στον ανθρώπινο ορό ως βοήθημα στην διάγνωση και θεραπεία διαφόρων αυτοάνοσων νόσων. Τα τέσσερα κυριότερα αυτοαντισώματα που εντοπίστηκαν είναι τα αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA), τα αντιμιτοχονδριακά αντισώματα (AMA), αντισώματα κατά λείων μυϊκών ινών, (ASMA), και αντισώματα κατά τοιχωματικών γαστρικών κυττάρων AGPCA).

Περίληψη Και Αρχη Μεθοδου

Ο έμμεσος ανοσοφθορισμός είναι η μέθοδος αναφοράς για την ανίχνευση και τιτλοποίηση των κυκλοφορούντων στον ορό αυτοαντισωμάτων. Γενικά προτιμούνται τμήματα ζωικού ιστού, π.χ. αρουραίου, έναντι άλλων ευρέως χρησιμοποιούμενων υποστρωμάτων, συμπεριλαμβανόμενων και των τμημάτων ανθρώπινου ιστού και κυτταρικών σκευασμάτων· αυτό οφείλεται κυρίως στην απουσία παρεμβολής HLA και /ή άλλων αντισωμάτων ομάδων αίματος. Η χρήση τριών διαφορετικών ιστών (ήπατος, νεφρού και στομάχου) καθιστά ευκολότερη την αναγνώριση των αυτοαντισωμάτων, μέσω σύγκρισης των αποκτηθέντων, με κάθε ιστό, αποτελεσμάτων μεταξύ τους.

Συγκεκριμένα αυτοαντισώματα σχετίζονται με διάφορες νόσους. ANA (αντιπυρηνικά αντισώματα) σχεδόν πάντα απαντώνται στη νόσο του συστηματικού ερυθματώδους λύκου (ΣΕΛ) αλλά εμφανίζονται επίσης συχνά και σε ασθενείς με νόσους συνδετικού ιστού και ρευματοειδείς νόσους. AMA (αντιμιτοχονδριακά αντισώματα) εμφανίζονται συχνά στην πρωτοπαθή χολική κίρρωση αλλά μπορεί επίσης να ανιχνευθούν και σε ασθενείς με άλλες ηπατικές νόσους. ASMA (αντισώματα κατά λείων μυϊκών ινών), συχνά σχετίζονται με χρόνια ενεργή ηπατίτιδα και πρωτοπαθή χολική κίρρωση, αλλά ανιχνεύονται επίσης σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε διάφορες άλλες καταστάσεις. AGPCA (αντισώματα κατά τοιχωματικών γαστρικών κυττάρων) εμφανίζονται στον ορό των περισσότερων ασθενών με κακοήγη αναιμία. Λεπτομερέστερη περιγραφή του ποια αυτοαντισώματα σχετίζονται με ποια νόσο, δίδεται στο Αποτελέσματα τμήμα¹⁻⁹

Αρχη Μεθοδου

Χρησιμοποιείται μία μέθοδος έμμεσου ανοσοφθορισμού στην οποία δείγματα ασθενών και κατάλληλοι οροί ελέγχου επωάζονται με το υπόστρωμα που φέρεται σε αντικειμενοφόρες πλάκες.¹⁰ Τα μη αντιδρώντα αντισώματα εκπλένονται και προστίθεται ένα κατάλληλο σύζευγμα σημασμένο με φλουορεσκεΐνη. Το μη συνδεδεμένο σύζευγμα εκπλένεται και τα πλακίδια διαβάζονται με την βοήθεια ενός μικροσκοπίου φθορισμού. Τα θετικά δείγματα παράγουν έναν φθορισμό χρώματος πράσινου-του-μήλου ο οποίος αντιστοιχεί σε περιοχές τού ψυγμένου τμήματος στις οποίες έχει συνδεθεί αυτοαντίσωμα.

Αντιδραστηρια

1. Τομές ήπατος, νεφρών, και στομάχου αρουραίου σε αντικειμενοφόρες πλάκες 5 ή 10 βυθισμάτων, με desiccant

Διαγνωστικά σύνολα μόνο:

2. Ομοιογενής θετικός ορός ελέγχου ANA Διάταξη Φθορισμού, περιέχων 0,09% Νατραζίδιο. **Προαραιωμένο, έτοιμο προς χρήση.**
3. Αρνητικός πρότυπος ορός ελέγχου (control) συστήματος IFA, 0,09% νατραζίδιο. **Προαραιωμένο, έτοιμο προς χρήση.**
4. Σύζευγμα, με ισοθειοκυανική φλουοροσκεΐνη, αντι-ανθρώπινης IgG (H+L) προβάτου, κεκαθαμένης με χρωματογραφία χημικής συγγένειας, περιέχων 0,09% Νατραζίδιο. **Προαραιωμένο, έτοιμο προς χρήση.**
5. Θετικός ορός ελέγχου Μιτοχόνδρια (AMA) Διάταξη Φθορισμού, περιέχων 0,09% Νατραζίδιο. **Προαραιωμένο, έτοιμο προς χρήση.**
6. Θετικός ορός ελέγχου Χαλά των μυϊκών ινών (ASMA) Διάταξη Φθορισμού, περιέχων 0,09% Νατραζίδιο. **Προαραιωμένο, έτοιμο προς χρήση.**
7. 1% Evans Blue, (Προαιρετική αντιχρωστική)
8. Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών-ορού (PBS), συμπυκνωμένο επί 40 σε υγρή μορφή
9. Στυπτικές ταινίες, για την αφύγρανση των πλακών μετά την πλύση
10. Υλικό συγκόλλησης, περιέχων έναν αντι-αλλοιωτικό παράγοντα χρώσης (DABCO) 1,4-διαζαδικυκλο [2.2.2] οκτάνιο
11. Καλυπτρίδες

Προσοχή/ Ειδικα Μετρα

Όλοι οι δότες του παρεχομένου ανθρώπινου ορού (μόνο διαγνωστικά σύνολα) εξετάστηκαν και διαπιστώθηκαν αρνητικοί για αντιγόνο επιφανείας Ηπατίτιδας Β και αντισώματα για τον ιό Ηπατίτιδας C και τον ιό ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV 1 & 2). Εν τούτοις, αυτές οι εξετάσεις δεν μπορούν να εγγυηθούν την απουσία μολυσματικών παραγόντων. Θα πρέπει να προσδιοριστούν κατάλληλες μέθοδοι χειρισμού και απόρριψης για όλα τα εν δυνάμει μολυσματικά υλικά και μόνο προσωπικό επαρκώς εκπαιδευμένο σε τέτοιες μεθόδους, επιτρέπεται να διενεργεί τέτοιες διαδικασίες.

Το Evans Blue και οι οροί ελέγχου του διαγνωστικού συνόλου περιέχουν 0,09% νατραζίδιο ως συντηρητικό και χρειάζεται προσεκτικό χειρισμό – μην επιτρέψετε να απορροφηθούν ή να έρθουν σε επαφή με το δέρμα ή με τις βλενογόνους μεμβράνες. Αν, εν τούτοις, υπάρξει επαφή, πλύνετε με άφθονο νερό και αναζητήστε ιατρική συμβουλή. Με την επαφή με το χαλκό και το 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 θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από κατάλληλα εκπαιδευμένα άτομα για τους προαναφερθέντες λόγους. Συνιστάται αυστηρή προσκόλληση στην συγκεκριμένη διαδικασία.

Αποθήκευση

Τα διαγνωστικά σύνολα και οι αντικειμενοφόρες πλάκες που δεν έχουν ανοιχτεί, θα πρέπει να φυλάσσονται στους 2-8°C και μπορούν να χρησιμοποιηθούν έως την ημερομηνία λήξεως. ΜΗ ΚΑΤΑΨΥΧΕΤΕ. Μόλις οι πλάκες βγουν από τον φάκελο αλουμινίου που βρίσκονται, θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν αμέσως. Το αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών-ορού PBS μπορεί να διατηρηθεί επί έως και ένα μήνα σε 2-8°C. Όλα τα αντιδραστήρια θα πρέπει να φυλάσσονται στους 2-8°C.

Δείγματα

Τα δείγματα αίματος θα πρέπει να συλλέγονται με αιμοληψία, και να αφεθούν να πήξουν με φυσικό τρόπο και ο ορός να διαχωριστεί το συντομότερο δυνατόν, έτσι ώστε να προληφθεί η αιμόλυση. Ο ορός μπορεί να φυλάσσεται στους 2-8°C για έως και 7 ημέρες¹¹ πριν την εξέταση, ή για παρατεταμένη φύλαξη να μοιράζεται σε σωληνάρια και να φυλάσσεται στους -20°C ή χαμηλότερα. ΜΗΝ καταψύχετε και αποψύχετε τους ορούς περισσότερο από μια φορά. Αποφύγετε την χρήση λιπαιμικών, αιμολυμένων ή μικροβιακά μολυσμένων ορών καθώς μπορεί να εμφανιστούν μειωμένοι τίτλοι ή μη ευκρινείς διατάξεις χρώσης.

Διαδικασία

Υλικά που παρέχονται (διαγνωστικά σύνολα)

704170

1. 10 x *Rat liver, kidney, stomach slide (5-well)* (αντικειμενοφόρα πλάκα ήπατος, νεφρού, στομάχου αρουραίου, 5 βυθισμάτων)
2. 1 x 1mL *ANA Homogeneous Pattern* (ANA Διάταξη Φθορισμού, προαραιωμένο)
3. 1 x 1mL *IFA System Negative Control* (Αρνητικός ορός ελέγχου συστήματος IFA, προαραιωμένο)
4. 1 x 1mL *Mitochondrial (AMA) Pattern* (Μιτοχόνδρια (AMA) Διάταξη Φθορισμού, προαραιωμένο)
5. 1 x 1mL *Smooth Muscle Positive Control* (Ομαλός μυς (ASMA) Διάταξη Φθορισμού, προαραιωμένο)
6. 1 x 7mL FITC IgG (H&L) Conjugate (IgG (H+L) FITC κεκαθαρμένη με χρωματογραφία χημικής συγγένειας, σύζευγμα)
7. 1 x 3mL *1% Evans Blue Counterstain* (1% Evans Blue Αντιχρωστική)
8. 2 x 25mL *PBS Buffer* (PBS Ρυθμιστικό Διάλυμα Φωσφορικών- ορού συμπυκνωμένο, x40).
9. 1 x 3mL *Mounting Medium* (Υλικό συγκόλλησης)
10. 20 x *Blotters* (Στυπτικές ταινίες)
11. 10 x *Coverslips* (Καλυπτρίδες)
12. 1 x Instruction Leaflet (1 x Φυλλάδιο οδηγιών)

704180

1. 25 x *Rat liver, kidney, stomach slide (10-well)* (αντικειμενοφόρα πλάκα ήπατος, νεφρού, στομάχου αρουραίου, 10 βυθισμάτων)
2. 1 x 1mL *ANA Homogeneous Pattern* (ANA Διάταξη Φθορισμού, προαραιωμένο)
3. 1 x 1mL *IFA System Negative Control* (Αρνητικός ορός ελέγχου συστήματος IFA, προαραιωμένο)
4. 1 x 1mL *Mitochondrial (AMA) Pattern* (Μιτοχόνδρια (AMA) Διάταξη Φθορισμού, προαραιωμένο)
5. 1 x 1mL *Smooth Muscle Positive Control* (Ομαλός μυς (ASMA) Διάταξη Φθορισμού, προαραιωμένο)
6. 1 x 15mL FITC IgG (H&L) Conjugate (IgG (H+L) FITC κεκαθαρμένη με χρωματογραφία χημικής συγγένειας, σύζευγμα)
7. 1 x 3mL *1% Evans Blue Counterstain* (1% Evans Blue Αντιχρωστική)
8. 2 x 25mL *PBS Buffer* (PBS Ρυθμιστικό Διάλυμα Φωσφορικών- ορού συμπυκνωμένο, x40).
9. 1 x 10mL *Mounting Medium* (Υλικό συγκόλλησης)
10. 50 x *Blotters* (Στυπτικές ταινίες)
11. 25 x *Coverslips* (Καλυπτρίδες)
12. 1 x Instruction Leaflet (1 x Φυλλάδιο οδηγιών)

Παρεχόμενα υλικά (αντικειμενοφόρες πλάκες)

1. **504170.10** - 10 x *Rat liver, kidney, stomach slide (5-well)* (αντικειμενοφόρα πλάκα ήπατος, νεφρού, στομάχου αρουραίου, 5 βυθισμάτων).
ή
2. **504180.25** - 25 x *Rat liver, kidney, stomach slide (10-well)* (αντικειμενοφόρα πλάκα ήπατος, νεφρού, στομάχου αρουραίου, 10 βυθισμάτων).
3. 1 x Φυλλάδιο οδηγιών

Αντιδραστήρια και εξοπλισμός που δεν συμπεριλαμβάνονται

Αποσταγμένο νερό για την αραιώση του PBS

Δοχείο για το ρυθμιστικό PBS

Μικροπιπέτες και ρύγχη μιας χρήσεως για την τοποθέτηση των δειγμάτων των ασθενών

Υγρός θάλαμος για τα στάδια της επώασης

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

Πλαστικό μαλακό μπουκάλι για αρχική πλύση με PBS

Αν χρησιμοποιηθούν μόνο αντικειμενοφόρες πλάκες επιπρόσθετα συστατικά μπορεί να αποκτηθούν από την INOVA Diagnostics: PBS (508002), Αρνητικός ορός ελέγχου συστήματος IFA (508186), ANA ομοιογενές σχέδιο (504054), Σχέδιο μιτοχονδρίων (AMA) (504052), Ομαλό σχέδιο μυών (ASMA) (504053), (IgG (H+L) FITC κεκαθαρμένη (504021, 504072), υλικό συγκόλλησης (504046, 504047), 1% Evans Blue (504049).

Διαδικασία εξέτασης

Ποιοτικός έλεγχος

Θετικός και αρνητικός ορός ελέγχου πρέπει να χρησιμοποιούνται κάθε φορά που εξετάζεται μια παρτίδα δειγμάτων.

- Υλικό συγκόλλησης:** Βγάλτε το υλικό συγκόλλησης από το ψυγείο και αφήστε το να φτάσει σε θερμοκρασία δωματίου (18-28°C) πριν τη χρήση.
- Αραίωση του διαλύματος PBS.** Αραιώνετε το διάλυμα PBS με αποσταγμένο νερό (1 μέρος διαλύματος PBS + 39 μέρη αποσταγμένο νερό) και ανακατεύετε. Το PBS χρησιμοποιείται για τη αραιώση των δειγμάτων των ασθενών και επίσης ως πλυστικό διάλυμα.
- Αραίωση των δειγμάτων των ασθενών.
Ανίχνευση θετικών: Αραιώνετε τα δείγματα των ασθενών 1/20 προσθέτοντας 50μL ορού σε 950μL Ρυθμιστικού Διαλύματος Φωσφορικών-ορού (PBS).
Τιτλοποίηση: Κάνετε διαδοχικές αραιώσεις θετικών δειγμάτων με Ρυθμιστικό Διάλυμα Φωσφορικών -ορού (π.χ, 1/20 1/40, 1/80, 1/160 και 1/320 κ.λ.π).
Για παράδειγμα: Παίρνετε 100μL του 1/20 διαλύματος, αναμειγνύετε με 100μL PBS ώστε να δώσει αραιώση 1/40. Επαναλάβετε για περαιτέρω αραιώση.
- Αντικειμενοφόρες πλάκες.** Αφήστε τις πλάκες να φτάσουν σε θερμοκρασία δωματίου (18-28°C) πριν τις βγάλετε από τις θήκες τους. Σημάνετε τις καταλλήλως, τοποθετείτε 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.
- Επώαση αντικειμενοφόρων πλακών.** Επώαστε τις πλάκες για 20 λεπτά σε έναν υγρό θάλαμο σε θερμοκρασία δωματίου (18-28°C).
- Πλυστικό Διάλυμα.** Αφαιρείτε τις πλάκες από τον υγρό θάλαμο και ξεπλένετε λίγο με PBS. Μην εκτοξεύετε απ'ευθείας πάνω στα βυθίσματα. Τοποθετείτε τις αντικειμενοφόρες πλάκες σε μία βάση/ σχάρα, βυθίζετε σε PBS και ανακινείτε ή ανακατέψτε για 5-10 λεπτά.
- Προσθήκη του φθορίζοντος συζεύγματος.** Τινάζετε το υπερβάλλον PBS και στεγνώστε γύρω από τα βυθίσματα χρησιμοποιώντας τις στυπτικές ταινίες που παρέχονται. Επιστρέψτε τις πλάκες στον υγρό θάλαμο και αμέσως καλύψτε κάθε βύθισμα με μία σταγόνα φθορίζοντος συζεύγματος. ΜΗΝ ΑΦΗΝΕΤΕ ΤΑ ΒΥΘΙΣΜΑΤΑ ΑΚΑΛΥΠΤΑ ΓΙΑ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΟ ΑΠΟ 15 ΔΕΥΤΕΡΟΛΕΠΤΑ. Το στέγνωμα του υποστρώματος επηρεάζει σοβαρά τα αποτελέσματα.
- Επώαση πλακών.** Επώαστε για 20 λεπτά σε υγρό θάλαμο σε θερμοκρασία δωματίου (18-28°C) στο σκοτάδι.
- PBS Πλυστικό.** Πλύνετε ξανά όπως περιγράφηκε στο στάδιο 6. Προαιρετική η αντιχρωστική. Προσθέστε έως 2-3 σταγόνες Evans Blue 1% ανά 100mL του PBS προ της βύθισης της πλάκας.
- Συγκόλληση με καλυπτρίδα.** Αφαιρέστε μία-μία τις πλάκες από το πλυστικό PBS. Στεγνώστε γρήγορα γύρω από τα βυθίσματα και προσθέστε μια σταγόνα υλικού συγκόλλησης σε κάθε βύθισμα. Προσεκτικά χαμηλώστε την πλάκα πάνω στην καλυπτρίδα, αποφεύγοντας τις φυσαλίδες αέρα, αλλά αν ωστόσο δημιουργηθούν, μην επιχειρήσετε να τις αφαιρέσετε. Σκουπίστε το υπερβάλλον υλικό, γύρω από την καλυπτρίδα.
- Διαβάστε τις αντικειμενοφόρες πλάκες με μικροσκόπιο φθορισμού.** Οι πλάκες μπορεί να αποθηκευτούν επί έως και 3 μέρες σε 2-8°C, στο σκοτάδι, χωρίς σημαντική απώλεια φθορισμού.

Αποτελέσματα

Ποιοτικός έλεγχος

Ο θετικός για ANA, (αντιπυρηνικά αντισώματα), ορός ελέγχου θα πρέπει να δώσει μία ομοιογενή διάταξη κυτταρικών πυρήνων χρώματος έντονου -πράσινου -του μήλου-. Ο θετικός ορός ελέγχου για αντιμιτοχονδριακά αντισώματα, θα πρέπει να δώσει χρώση των νεφρικών σωληναρίων και των γαστρικών τοιχωματικών κυττάρων χρώματος έντονου πράσινου -του μήλου Ο θετικός ορός ελέγχου για αντισώματα κατά των λείων μυϊκών ινών θα πρέπει να δώσει χρώση έντονου πράσινου- του- μήλου της μυϊκής στοιβάδας του στομάχου. Ο αρνητικός ορός ελέγχου θα πρέπει να δώσει θολή πράσινη χρώση σε όλους τους ιστούς, χωρίς διακριτό φθορισμό. Αν οι οροί ελέγχου δεν εμφανισθούν όπως περιγράφηκαν παραπάνω, η εξέταση είναι άκυρη και θα πρέπει να επαναληφθεί.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Αρνητικό αποτέλεσμα

Εμφανίζεται ως θολή πράσινη χρώση σε όλα τα τμήματα ιστού, άνευ διακριτού φθορισμού. Σε περίπτωση που υπάρχει η υποψία ότι η αντίδραση είναι ασθενής, η εξέταση θα πρέπει να επαναληφθεί σε μικρότερης αραιώσης διάλυμα (π.χ. 1/40). Αν το αποτέλεσμα της επανάληψης της εξέτασης εμφανίζεται το ίδιο με το αρχικό, η εξέταση θεωρείται αρνητική.

Θετικό αποτέλεσμα

Το θετικό αποτέλεσμα της εξέτασης εμφανίζεται ως ενδεικτικός φθορισμός σε συγκεκριμένες περιοχές ιστού με μία ή και περισσότερες από τις κάτωθι μορφές:

Αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA)

Τα ANA χρωματίζουν τους πυρήνες των κάτωθι κυττάρων: ηπατικά, άπω και εγγύς εσπειραμένων νεφρικών σωληναρίων, γαστρικά τοιχωματικά και θεμέλια κύτταρα. Σχεδόν όλοι οι ασθενείς με ΣΕΛ εμφανίζουν ANA στον ορό, αλλά ANA μπορεί επίσης να ανιχνευθούν σε διάφορες παθήσεις του συνδετικού ιστού συμπεριλαμβανομένης και της ρευματοειδούς αρθρίτιδας. ANA μπορεί επίσης να παρουσιαστούν στην χρόνια ενεργή ηπατίτιδα και στην πρωτοπαθή χολική κίρρωση καθώς και ως αντίδραση σε συγκεκριμένες φαρμακευτικές αγωγές.

Επιπρόσθετες πληροφορίες μπορεί να αποκτηθούν από την ερμηνεία των αποκτηθέντων πυρηνικών διατάξεων ANA των δειγμάτων (βλέπε κάτωθι). Συνιστάται όλα τα θετικά δείγματα να τιτλοποιούνται έως τελικού σημείου ούτως ώστε να διασφαλιστεί η ανίχνευση πιθανών μεικτών αντιδράσεων οι οποίες μπορεί σε διαφορετική περίπτωση να είχαν διαφύγει της προσοχής. Επίσης συνιστάται περαιτέρω ανάλυση τέτοιων δειγμάτων για αυτοαντισώματα έναντι διπλής αλυσού DNA και διαλυτών (εκχυλιζομένων) πυρηνικών αντιγόνων (ENA).

Διάταξη Φθορισμού	Σχετιζόμενα κοινά αντιγόνα	Σχετιζόμενες Νόσοι
Ομοιογε-νής	ds DNA, ιστόνες	ΣΕΛ Ρευματοειδής Αρθρίτις (ΡΑ) Μεικτή νόσος συνδετικού ιστού Φαρμακογενής λύκος
Περιφερική (Rim) Στικτή	Φυσικό/ds DNA Διαλυτά Πυρηνικά αντιγόνα Ριβονουκλεοπρωτεΐνη Scl-70, SSB	ΣΕΛ Σκληρόδερμα Σύνδρομο Sjögren Μεικτή νόσος συνδετικού ιστού ΣΕΛ
Πυρινίσκου	4-6S sRNA	Σκληρόδερμα Σύνδρομο Sjögren ΣΕΛ, ΡΑ και Εξελισσόμενη συστηματική σκλήρυνση

Διατάξεις χρώσης οργανο-ειδικών αυτοαντισωμάτων συμπεριλαμβανών:

Αντισωμα	Σχετιζόμενος ιστός	Κυρίες συσχετιζόμενες νοσοί
Αντιμιτοχονδριακά αντισώματα (AMA)	Κυτταρόπλασμα νεφρικών άπω εσπειραμένων σωληναρίων και εγγύς εσπειραμένων σωληναρίων (σε μικρότερο βαθμό) Κυτταρόπλασμα Ηπατικών κυττάρων (ήπαρ) και κυτταρόπλασμα γαστρικών τοιχωματικών κυττάρων (στομάχι)	Πρωτοπαθής χολική κίρρωση και άλλες ηπατικές νόσοι.
Αντισώματα κατά λείων μυϊκών ινών (ASMA)	Μυϊκές στοιβάδες (στομάχι) Μυϊκές στοιβάδες αρτηριολίων (άλλοι ιστοί)	Χρόνια ενεργή ηπατίτιδα
Αντισώματα κατά γαστρικών τοιχωματικών κυττάρων (AGPCA)	Τοιχωματικά κύτταρα (στομάχι)	Κακοήθης αναιμία
Αντισώματα κατά ρετικουλίνης (ARA)	Περισωληναριακές ίνες και καψίδια του Bowman (νεφρό) Μεμβράνες Ηπατικών κυττάρων, κολπώδη τοιχώματα (ήπαρ)	Νόσος του Crohn Κοιλιοκάκη Ερπητοειδής Δερματίτις

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

Περιορισμοί της διαδικασίας

- 1 Αυτή η εξέταση δεν θα πρέπει να θεωρείται από μόνη της διαγνωστική. Όλοι οι άλλοι παράγοντες συμπεριλαμβανομένων του κλινικού ιστορικού των ασθενών και άλλων αποτελεσμάτων ορολογικών εξετάσεων ή βιοψίας πρέπει επίσης να λαμβάνονται υπ' όψη.
- 2 Οι διατάξεις χρώσης συχνά αλλάζουν με την τιτλοποίηση τελικού σημείου. Αυτό οφείλεται, συνήθως, στην παρουσία περισσότερων του ενός αυτοαντισωμάτων, ειδικά σ' ό,τι αφορά στα ANA.
- 3 Ένα αρνητικό αποτέλεσμα με αυτό το διαγνωστικό σύνολο, μπορεί να οφείλεται σε ύφεση της νόσου ή στην παρουσία αυτοαντισωμάτων μη ανιχνευομένων με αυτή την τεχνική.
- 4 Η πηγή φωτός, τα φίλτρα και τα οπτικά μέρη των διαφόρων τύπων των μικροσκοπίων φθορισμού, επηρεάζουν την ευαισθησία της μεθόδου. 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.
- 5 Τα αυτοαντισώματα μπορεί να ενεργοποιηθούν ή να εκλυθούν από ένα ευρύ φάσμα φαρμάκων συμπεριλαμβανομένων και των αντισυλληπτικών που λαμβάνονται από το στόμα καθώς και των αντιβιοτικών.
- 6 Εξ' αιτίας της μικρής απόστασης μεταξύ των βυθισμάτων στις 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.
7. Η καταλληλότητα για χρήση με αντιδραστήρια IFA άλλων κατασκευαστών δεν έχει αξιολογηθεί αλλά τέτοια αντιδραστήρια δεν θα έπρεπε απαραίτητα να αποκλειστούν.

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 και συγκεκριμένα χαρακτηριστικά απόδοσης Αναμενόμενα αποτελέσματα

Φυσιολογικά

Αντισωμα	Ποσοστό εμφάνισης	Αναφορά
ANA	0-2	2
AMA	0-8	7
ASMA	3	2
ARA	5	8
AGPCA	10-15 (σε ηλικιωμένους)	9

Μη φυσιολογικά

	Κλινική διαγνώση	Ποσοστό εμφάνισης	Αναφορά
ANA	ΣΕΛ	99	4
	Μεικτή Νόσος συνδετικού ιστού	90	3
	Άλλες αυτοάνοσες νόσοι (ΡΑ, σκληρόδερμα, Σύνδρομο Sjögrens, δερματομυοσίτις)	15-50	3, 5
AMA	Πρωτοπαθής χολική κίρρωση	>95	3
ASMA	Χρόνια ηπατίτις	70	3
	Πρωτοπαθής χολική κίρρωση	50	3
ARA	Νόσος του Crohn	24	6
	Κοιλιοκάκη	38-50	3, 6
	Ερπητοειδής Δερματίτις	22	6
AGPCA	Κακοήθης αναιμία	90	9

Συγκριτική μελέτη

Διεξήχθη μια συγκριτική μελέτη σε 96 κλινικά δείγματα, χρησιμοποιώντας αυτό το διαγνωστικό σύνολο και μια εμπορικά διαθέσιμη μέθοδο αναφοράς. 93 από τα 96 εξετασθέντα δείγματα έδωσαν ταυτόσημα αποτελέσματα και με τις δύο μεθόδους. Για τις διατάξεις που περιγράφηκαν στο τμήμα αποτελέσματα, η σχετική ευαισθησία κυμάνθηκε από 89-100%, η σχετική ειδικότητα ήταν 100% σε κάθε περίπτωση, και η σχετική συμφωνία κυμάνθηκε από 93-100%. Για τα δείγματα που διέφεραν, ασθενής θετική χρώση για ANA ή ASMA αποκτήθηκε μόνο με την μέθοδο αναφοράς, πράγμα το οποίο υποδηλώνει ότι αυτά τα δείγματα ήταν οριακά για την σχετική διάταξη, και / ή υπάρχουν ελάχιστες διαφορές ευαισθησίας μεταξύ των δύο μεθόδων.

Περίληψη της διαδικασίας

1. Αφήνετε το υλικό συγκόλλησης να έρθει σε θερμοκρασία δωματίου.
2. Αραιώνετε το PBS με αποσταγμένο νερό.
3. Αραιώνετε τους ορούς των ασθενών 1/20 με PBS.
4. Εξισορροπείτε τις πλάκες σε θερμοκρασία δωματίου (18-28°C)
5. Διανείμετε 50μL θετικών και αρνητικών ορών ελέγχου και αραιωμένων ορών ασθενών στα κατάλληλα βύθισμα.
6. Επώαστε σε υγρό θάλαμο επί 20 λεπτά.
7. Ξεπλύνετε επί 5-10 λεπτά σε PBS.
8. Αφυγράνετε γύρω από κάθε βύθισμα και αμέσως καλύψτε το με μία σταγόνα συζεύγματος.
9. Επώαστε όπως στο βήμα 6.
10. Ξεπλύνετε όπως στο βήμα 7.
11. Συγκολλήστε
12. Εξετάστε την πλάκα με ένα μικροσκόπιο φθορισμού.

Βιβλιογραφία

1. Tan E M (1989). Antinuclear Antibodies: Diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv. Immunol.* **44**, 93-151.
2. Doniach, D, et al. (1986). Tissue antibodies in primary biliary cirrhosis, active chronic (lupoid) hepatitis, cryptogenic cirrhosis and other liver diseases and their clinical implications. *Clin. Exp. Imm* **1**: 237-262.
3. Wallington, T B & Gooi H C (1990). *Clinical Immunology. A practical approach.* Ed. Gooi, H C & Chapel, H. Publ. IRL Press, Oxford UK. 195-220.
4. Cavallaro, J J, et al (1976). Immunofluorescent detection of autoimmune diseases, Immunology Series No. 7. CDC, Atlanta, GA.
5. Seah, P P et al (1971). Antireticulin antibody: Tissue autoantibodies in dermatitis herpetiformis and adult coeliac disease. *Lancet* **1**, 834-836.
6. Seah, P P et al (1973). Antireticulin antibody: Incidence and diagnostic significance. *Gut* **14**, 311-315.
7. Goudie, R B et al (1966). Serological and histological diagnosis of primary biliary cirrhosis. *J. Clin. Path*, **19**, 527-538.
8. Rizzeto, M & Doniach, D (1973). Types of reticulin antibodies detected in human sera by immunofluorescence. *J. Clin. Path.* **26**, 841-851.
9. Bird, A G (1990). *Clinical Immunology. A practical approach.* Ed. Gooi, H C & Chapel, H. Publ. IRL Press, Oxford, UK. Pg.175-194.
10. Weller, TH, Coons, AH (1954). Fluorescent antibody studies with agents of Varicella and Herpes zoster propagated in vitro. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* **86**, 789 – 794.
11. 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
info@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

624170GRC

April 2010
Revision 0

