

COD 44148 16 Determinaciones	COD 44548 48 Determinaciones	COD 44715 96 Determinaciones
CONSERVAR A 2-8°C		
Para diagnóstico "in vitro" únicamente		

ANTICUERPOS ANTI-ENDOMISIO (AEA)

Inmunofluorescencia Indirecta
ESÓFAGO DE MONO (ENDOMISIO)

FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Los anticuerpos anti-endomisio (AEA) del suero se unen a sus correspondientes antígenos presentes en un corte de esófago de mono (tercio inferior). Los anticuerpos fijados se revelan con un suero anti-inmuglobulinas A humanas marcado con fluoresceína y se visualizan por microscopía de fluorescencia.

CONTENIDO

	COD 44148	COD 44548	COD 44715
Portaobjetos	4 x 4 pocillos	12 x 4 pocillos	12 x 8 pocillos
Control Positivo	1 x 0,3 mL	1 x 0,3 mL	2 x 0,3 mL
Control Negativo	1 x 0,3 mL	1 x 0,3 mL	2 x 0,3 mL
Conjugado	1 x 2 mL	1 x 2 mL	2 x 2 mL
PBS (20x)	1 x 100 mL	1 x 100 mL	1 x 100 mL
Medio de Montaje	1 x 3 mL	1 x 3 mL	1 x 3 mL
Papel Secante	1 x 4	1 x 12	1 x 12
Cubreobjetos	—	—	1 x 25

COMPOSICIÓN

Portaobjetos. Con cortes de esófago de mono (endomismo).

Control Positivo. Suero humano, azida de sodio 0,95 g/L.

Control Negativo. Suero humano, azida de sodio 0,95 g/L.

Conjugado IgA-FITC/Evans. Anti-inmuglobulinas A humanas conjugadas con isotiocianato de fluoresceína (FITC), azul de Evans, azida de sodio 0,95 g/L.

PBS (20x). Tampón fosfatos salino pH 7,2, azida de sodio 0,95 g/L.

Medio de Montaje. Glicerina tamponada, azida de sodio 0,1 g/L.

Papel Secante.

Cubreobjetos. 29 x 70 mm.

Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBS y para los anticuerpos anti-HCV y anti-HIV. Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

PBS (20x): Efectuar una dilución 1/20 del reactivo con agua destilada. En caso de aparecer precipitados precalentar a 37°C. Estable una semana a 2-8°C.

Los restantes componentes se utilizan tal como se suministran y son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

MATERIAL ADICIONAL

- Cámara húmeda
- Cubeta de tinción y pinzas
- Cubreobjetos de 24 x 60 mm
- Microscopio de fluorescencia equipado para la visualización del FITC

MUESTRAS

Suero. Estable una semana a 2-8°C.

Para el ensayo diluir a 1/5 en PBS. Para la titulación de una muestra positiva, realizar diluciones dobles a partir de la 1/5 en PBS.

PROCEDIMIENTO

1. Dejar atemperar los componentes del kit durante unos minutos (Nota 1).
2. Depositar una gota (25-50 µL) de la muestra diluida o del Control sobre el sustrato fijado en el portaobjetos, procurando cubrirlo perfectamente.
3. Incubar el portaobjetos durante 30 minutos a temperatura ambiente (15-30°C) en cámara húmeda.
4. Eliminar las gotas de las muestras inclinando el portaobjetos y golpeándolo ligeramente. Evitar la mezcla de sueros.
5. Eliminar el suero remanente en el portaobjetos lavándolo con una pequeña cantidad de PBS (Nota 2).
6. Lavar el portaobjetos sumergiéndolo en una cubeta con PBS durante 5 minutos. Cambiar el PBS y repetir el lavado.
7. Secar cuidadosamente el portaobjetos utilizando el papel secante especial suministrado. Se utilizará de nuevo en el paso 10. El sustrato debe permanecer siempre húmedo.
8. Depositar una gota del Conjugado en cada pocillo. Colocar el portaobjetos en una cámara húmeda e incubar a temperatura ambiente (15-30°C) durante 30 minutos.
9. Lavar el portaobjetos (ver paso 6).
10. Secar el portaobjetos (ver paso 7).
11. Depositar varias gotas del Medio de Montaje y colocar un cubreobjetos procurando evitar la formación de burbujas de aire.

LECTURA E INTERPRETACIÓN

Examinar el sustrato con un microscopio de fluorescencia (250-400x). Es recomendable realizar la lectura de inmediato.

Se considera positivo todo suero que origina fluorescencia de tipo reticular en la capa de musculatura lisa más próxima a la mucosa del esófago (endomismo) a una dilución 1/5 o superior.

Los sueros positivos pueden titularse. Se define el título como la dilución mayor que da resultado positivo.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

La determinación de los anticuerpos anti-endomisio es un ensayo muy sensible para el diagnóstico de la enfermedad celíaca. Se ha establecido una relación definida entre el título de dichos anticuerpos y la historia del paciente.

El diagnóstico de la enfermedad celíaca no debe basarse exclusivamente en el resultado de este ensayo, que debe ser complementado por otros.

NOTAS

1. No tocar el sustrato durante todo el procedimiento.
2. Utilizar un frasco lavador o pipeta para este lavado, evitando la posible contaminación con las muestras adyacentes.

BIBLIOGRAFÍA

Chorzelski T P, Beutner E H, Sulej J, Chorzewska H, Jablonska S, Kumar V, Kapuscinska A. Br J Dermatol 1984; 111:395-402.

Kapuscinska A, Zalewski T, Chorzelski T P, et al. J PediatrGastroenterol Nutr 1987; 6:529-534.