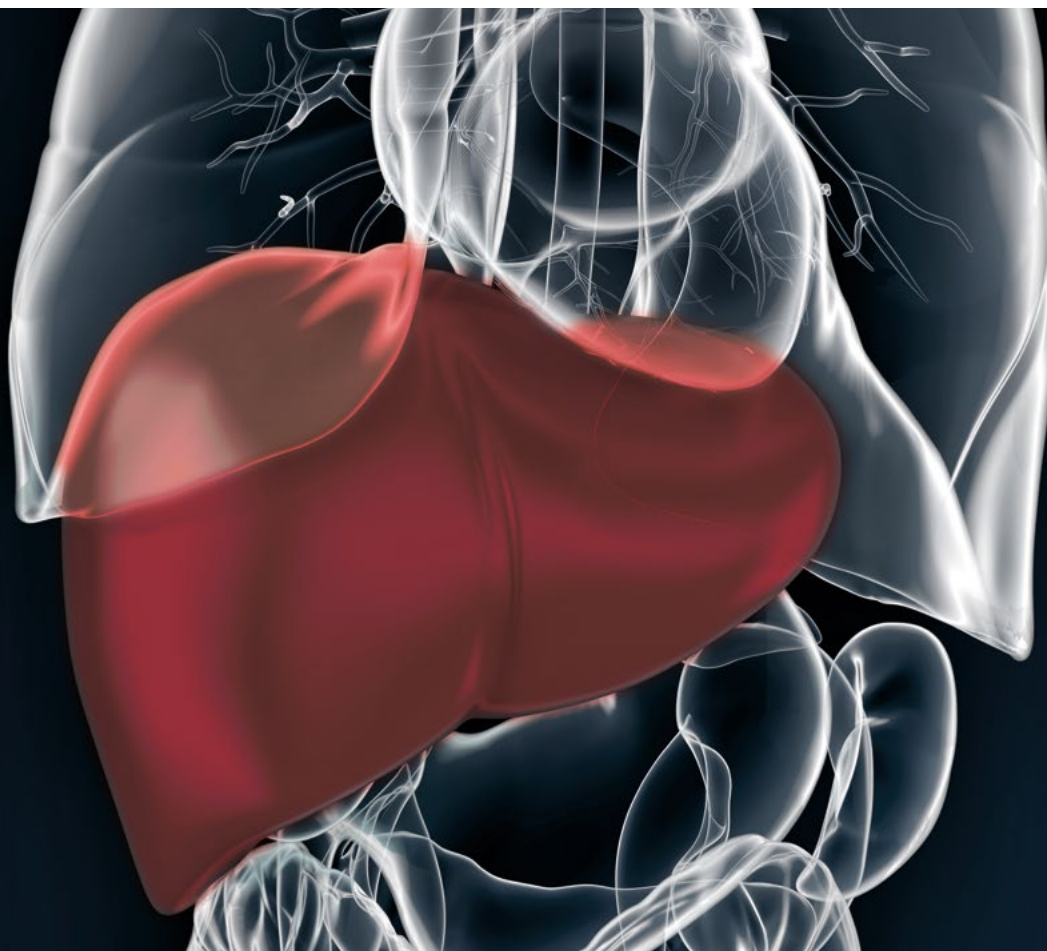




Autoimunitní hepatitida (AIH)
Primární biliární cholangitida (PBC)

Imunoenzymatická souprava pro diagnostiku autoimunitních onemocnění jater

MICROBLOT-ARRAY souprava je určena ke stanovení specifických protilátek
třídy IgG v lidském séru nebo plazmě



Diagnostické soupravy jsou určeny
pro profesionální použití v laboratoři.



Úvod

Autoimunitní onemocnění jater (AILD) je chronické onemocnění způsobené imunitně zprostředkovanou autoagresivní zánětlivou reakcí u geneticky náchylných jedinců. Jde o skupinu komplexních a závažných onemocnění postihujících imunitní systém, která vedou k zánětu a poškození jaterní tkáně. Je běžné, že se AILD nevyskytují samostatně a jsou u vnímavých jedinců provázena jinými autoimunitními onemocněními postihujícími i další orgány. V současnosti jsou do skupiny AILD zahrnuta následující onemocnění: autoimunitní hepatitida typu 1 a 2 (AIH1 a 2), méně častá je pak autoimunitní hepatitida typu 3 (AIH3), primární biliární cholangitida (PBC) a primární sklerotizující cholangitida (PSC).

Autoimunitní hepatitida (AIH)

AIH1 je autoimunitní onemocnění charakterizované chronickým zánětem jater. Je převažujícím typem AIH a nejčastěji postihuje ženy ve věku mezi 15 a 40 lety, ale může se vyskytnout také u mužů a v jiných věkových skupinách. Mezi hlavní antigenní markery patří kromě antinukleárních protilátek (ANA) také anti-SLA/LP protilátky, popř. anti-SMA protilátky.

AIH2 je méně častou formou, objevující se zejména u dětí a mladistvých, hlavním antigenním markerem jsou anti-LKM-1 a anti-LC-1 protilátky.

AIH3 je vzácnější formou, charakterizovaná zejména přítomností protilátek proti SLA/LP. Klinicky a terapeuticky se příliš neliší od AIH1.

Primární biliární cholangitida (PBC)

PBC je autoimunitní onemocnění, u kterého dochází k destrukci zanícených žlučovodů. Zasaženy jsou zejména malé intrahepatální žlučovody. Ohroženou skupinou jsou zejména ženy středního věku. Nicméně výskyt tohoto onemocnění v populaci je poměrně malý.

Hlavním antigenním markerem jsou anti-mitochondriální protilátky, zejména protilátky typu M2 a 3E(BPO). V případě, že je suspektní pacient testován negativně na AMA autoprotilátky, objevuje se většinou pozitivita na autoprotilátky proti jaderným strukturám, např. gp210, Sp100 nebo Ro52.

Primární sklerotizující cholangitida (PSC)

PSC je autoimunitní zánět intrahepatálních a extrahepatálních žlučových cest. Obdobný průběh nemoci bez přítomnosti autoprotilátek však může být navozen i působením vnějších faktorů – virů, tento stav se pak označuje jako sekundární cholangitida. Onemocnění postihuje z větší části muže, zejména ve věku do 40 let. Mezi významné antigenní markery patří kromě ANA a p-ANCA protilátek také anti-gp210 protilátky.

Většina pacientů trpících PSC je současně ohrožena i AIH a navíc se až u 30 % pacientů s PCS vyskytují trávicí potíže související s rozvojem autoimunitních procesů ve střevě, jako je např. ulcerózní kolitida nebo Crohnova choroba. U většiny pacientů se objevuje zvýšený titr antinukleárních autoprotilátek, ale i protilátek proti cytoplasmatickým antigenům neutrofilů (ANCA).

Diagnostika autoimunitních onemocnění jater

Diagnostika autoimunitních onemocnění jater (AILDs) je složitá a zahrnuje klinické, biochemické, histologické a sérologické vyšetření spolu s vyloučením dalších možných příčin poškození jater, jako je virová hepatitida, alkoholové nebo toxické poškození. Detekce autoprotilátek hraje klíčovou roli v diagnostice AILD, zejména u autoimunitní hepatitidy (AIH) a primární biliární cholangitidy (PBC).

Diagnostika založená na stanovení protilátek proti AILD pomocí metod, jako jsou IIF, ELISA, CLIA a imunoblot, je dnes považována za špičkový standard.

Specifické antigeny

Onemocnění	Antigen	Popis
Autoimunitní hepatitida	LKM-1	Liver Kidney microsomal type 1 (Cytosolový jaterní antigen typu 1) - Asociace s AIH2 a HCV - U AIH2 nižší titry, význam zejména u dětských pacientů
	LC-1	Liver cytosol-1 (Cytosolový jaterní antigen typu 1) - Vysoce specifické pro AIH2 (30 % pacientů) – jedním z diagnostických kritérií pro AIH2 - Autoprotilátky spojovány s vyšší aktivitou onemocnění
	SLA/LP	Soluble liver antigen/liver pancreas antigen - Autoprotilátky spojovány s AIH3, popř. AIH1 (rozpustný jaterní antigen), přítomný u cca 25 % pacientů s chronickou AIH - Jejich výskyt se liší v závislosti na etnicitě
	ASGPR	Asialoglycoprotein receptor - Důležitý diagnostický marker pro PBC - Může být přítomen i u jiných jaterních onemocnění virového původu - Hladina protilátek koreluje se závažností onemocnění a protilátky zcela vymizet při imunosupresivní terapii
Primární biliární cholangitida	gp210	Glycoprotein 210 - Antigen asociován s jadernou membránou - Vysoká specifita pro PBC, zejména u AMA negativních pacientů (30–50 %) - Pravděpodobná asociace s těžším průběhem PBC a vyšším rizikem vzniku cirhózy - Autoprotilátky mohou být spojovány i s PSC
	sp100	Speckled protein 100 kDa - Antigen asociovaný s mnohočetnými nukleárními tečkami - Vysoká specifita pro PBC, pravděpodobná asociace s progresivní formou PBC a rizikem fibrózy - Výskyt u 30–50 % AMA negativních pacientů
	PML	Promyelocytic Leukemia Protein - Výskyt u cca 12–19 % PBC pacientů - Asociace s PBC u AMA negativních pacientů (převážně v koexistenci s anti-Sp100)
	Nup62	Nucleoporin 62 - Vysoká specifita pro PBC, často současně s anti-gp210 protilátkami - Asociace s pozdějším stadiem onemocnění a s horší prognózou
	M2	Mitochondrial protein M2 - Váže anti-mitochondriální protilátky (AMA), vysoce citlivý - Typické pro PBC, pouze u cca 5-10 % PBC pacientů se AMA netvoří - Překryvné syndromy s AIH - Možný výskyt (méně časté) i u ANA pacientů (progresivní SS, SjS nebo SLE)
	3E(BPO)	Fusion protein
	OGDC-E2 PDC-E2	(BCOADC E2 + PDC E2 + OGDC E2) 2-oxo-glutarate dehydrogenase complex Pyruvate dehydrogenase complex
	Ro52	TRIM21 - Pravděpodobný marker PBC (vyskytuje se u cca 28 % pacientů) - Spojován s AIH1 (výskyt u cca 38 % pacientů) - Diagnostický marker SLE, SSc, specificky asociovaný s myozitidou

Pracovní postup



- ## Popis kontrolních spotů

- **R** – Reference
- **TC** – Test control
- **CA** – Conjugate control IgA
- **CG** – Conjugate control IgG
- **CM** – Conjugate control IgM
- **C1** – Calibration 1
- **C2** – Calibration 2
- **C3** – Calibration 3
- **C4** – Calibration 4

Krok	Kroky testu
	1. Dávkování Univerzálního roztoku 150 µl
	2. Smáčení 10 min při laboratorní teplotě
	3. Odsátí
	4. Ředění vzorků – séra/plazmy 1:51 (10 µl + 500 µl)
	5. Dávkování kontrol a ředěných vzorků 100 µl
	6. Inkubace 30 min při laboratorní teplotě
	7. Rychlé promytí v Univerzálním roztoku
	8. Odsátí a promytí v Univerzálním roztoku 3 x 5 minut 150 µl
	9. Dávkování konjugátu 100 µl
	10. Inkubace 30 min při laboratorní teplotě
	11. Rychlé promytí v Univerzálním roztoku*
	12. Odsátí a promytí v Univerzálním roztoku 3 x 5 minut 150 µl
	13. Dávkování Substrátového roztoku (BCIP/NBT) 100 µl
	14. Inkubace 15 min při laboratorní teplotě
	15. Rychlé promytí v destilované vodě*
	16. Odsátí a promytí v destilované vodě 2 krát ve 200 µl po 5 minutách
	17. Vysušení a vyhodnocení

*při použití promývačky naplňte jamky až po okraj
a ihned po naplnění poslední jamky odsajte

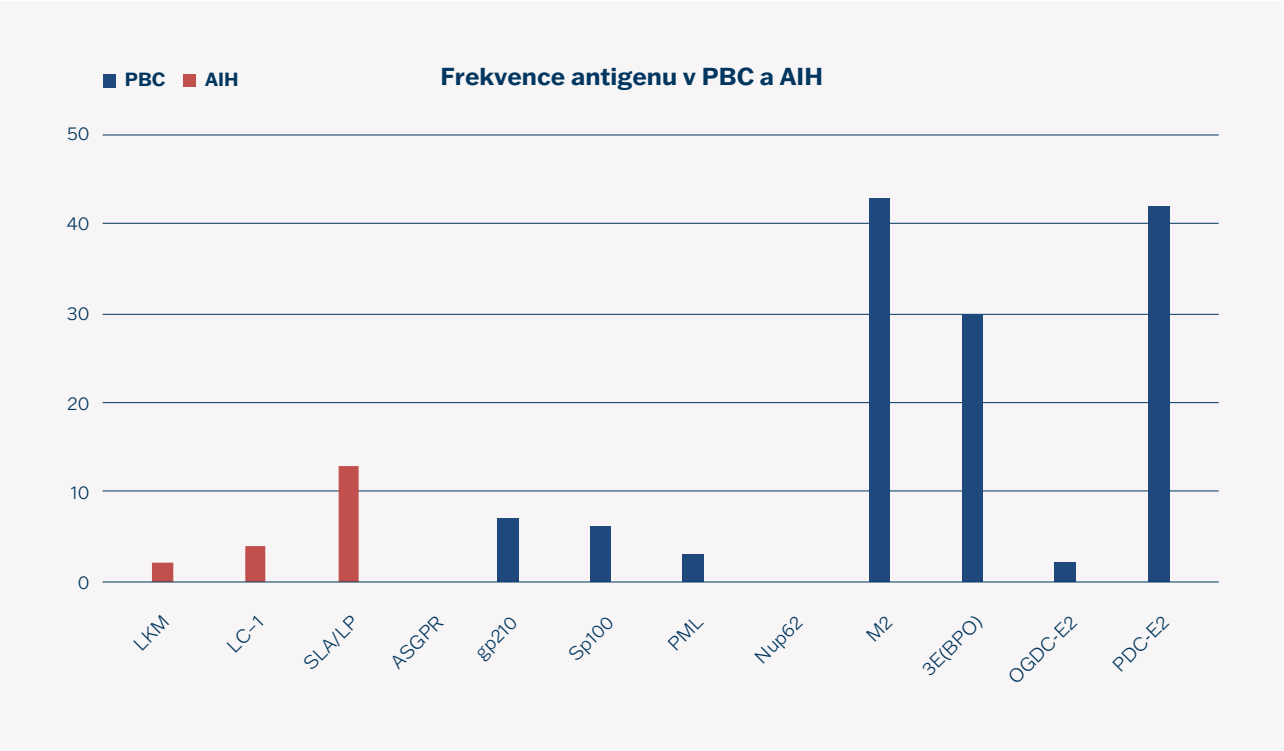
Uživatelský komfort

- Komponenty připravené k použití
- Zaměnitelnost komponent díky identifikaci šarže (Kalibrační data)
- Stejný pracovní postup (30–30–15 min)
- Barevně označené destičky, odlamovací jamky

Výsledky jednotlivých antigenů v testovaných panelech

[illegible]

Frekvence antigenu u primární biliární cholangitidy a autoimunitní hepatitidy testována na soupravě Microblot-Array Liver profile



Výsledky hodnocení externí klinické studie

	Parametr	Hodnota	95% interval spolehlivosti (CI)
Diagnostická citlivost	ALD (n = 63)	99,9 %	94,3 – 100,0 %
	PBC (n = 44)	99,9 %	92,0 – 100,0 %
	AIH (n = 19)	99,9 %	82,4 – 100,0 %
Diagnostická specifita (n = 60)		99,9 %	94,0 – 100,0 %
Pozitivní prediktivní hodnota	ALD (n = 63)	99,9 %	94,3 – 100,0 %
	PBC (n = 44)	99,9 %	92,0 – 100,0 %
	AIH (n = 19)	99,9 %	82,4 – 100,0 %
Negativní prediktivní hodnota	ALD (n = 60)	99,9 %	94,0 – 100,0 %
	PBC (n = 60)	99,9 %	94,0 – 100,0 %
	AIH (n = 60)	99,9 %	94,0 – 100,0 %
Věrohodnostní poměr	Pozitivní test (LR+)	>100	–
	Negativní test (LR-)	<0,0001	–
Srovnání s referenční metodou		96,0 %	91,5 – 98,5 %



FOLLOW US

BIOVENDOR.GROUP

Objednací údaje

MICROBLOT-ARRAY

<u>Kód</u>	<u>Produkt</u>	<u>Počet testů</u>
LKMMA48	Microblot-Array Liver profile	48

VÝROBCE

TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.

Křižíkova 188/68

612 00 Brno

Česká republika