

## ORGENTEC Diagnostika GmbH

Carl-Zeiss-Straße 49-51  
55129 Mainz - Germany

Phone: +49 (0) 61 31 / 92 58-0  
Fax: +49 (0) 61 31 / 92 58-58  
Internet: www.orgentec.com










Návod k použití  
2015-03






## ORG 284 Lactoferrin

### KRÁTKÝ POPIS

Alegria® Lactoferrin je testovací systém ELISA pro kvantitativní měření Lactoferrin ve vzorcích lidské stolice k použití při hodnocení zánětlivých střevních poruch. Tento výrobek je určen pouze pro profesionální in vitro diagnostiku.

### POUŽÍVANÉ SYMBOLY

	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Výrobce
	Katalogové číslo
	Dostačuje pro
	Kód šarže
	Spotřebujte do
	Teplotní omezení
	Viz návod k použití
	Chraňte před slunečním světlem

	Alegria® Testovací stripy
	Promývací pufr
	Systémová kapalina
	Extrakce média pro vzorky stolice
	Připraven k použití



### PRINCIP TESTU

Lactoferrin obsažený ve vzorcích lidské stolice je třeba separovat ze stolice pomocí extrakčního média. Poté lze extrahovaný Lactoferrin analyzovat pomocí analýzy Alegria® Lactoferrin.

Test Alegria® obsahuje mikrostripy s názvem Alegria® Test Strips. Mají 8 jamek a jsou označené čárovým kódem. Každý proužek je určen pro jedno stanovení z jednoho vzorku od pacienta. Alegria® Test Strip obsahuje kompletní sadu reagensů: enzymatický konjugát, enzymatický substrát, vzorek pufru a kontrolní vzorek specifický pro daný test. Na každém proužku jsou dále dvě jamky protilátková povrchová úprava, které slouží jako reakční jamky pro jeden kontrolní vzorek a jeden vzorek od pacienta.

Stanovení je založeno na nepřímé imunitní reakci navázaného enzymu, která má tyto fáze: Lactoferrin přítomný v řídicím / zkoumaném vzorku se váže na plochu reakční kavity, což vytváří komplex protilátkového antigenu. Po inkubaci se při prvním promytí odstraní nenavázané a nespecificky navázané molekuly. Následně přidání enzymatického konjugátu se naváže na imobilizovaný komplex protilátky a antigenu. Po inkubaci se při druhém promytí odstraní nenavázaný enzymatický konjugát. Po přidání enzymatického substrátu dojde k hydrolyze a ke vzniku zbarvení v průběhu inkubace. Intenzita modrého zbarvení odpovídá koncentraci komplexu protilátky a antigenu a lze ji fotometricky měřit při vlnové délce 650 nm.

Princip testu Alegria® Test Strip vychází z patentované technologie SMC® (Sensoronic Memorized Calibration): údaje o testu, analýze a hodnocení a dále datum expirace dané šarže jsou obsaženy v čárovém kódu vytištěném na každém proužku testu Alegria® Test Strip.

Alegria® Test Strip je možné použít s diagnostickým přístrojem Alegria® – plně automatickým analyzátozem s přímým přístupem (Random Access). Pomocí technologie SMC® jsou data zakódovaná v čárovém kódu přenesena z proužku Alegria® Test Strip do přístroje, který automaticky provede test a vyhodnotí jej. Přístroj odečte datum expirace a je-li test Alegria® Test Strip prošlý, odmítne jeho další zpracování.

### UPOZORNĚNÍ A PREVENCE

- Všechna činidla této sady jsou navržena pouze pro profesionální in vitro diagnostiku.
- Interní řízení obsahuje materiál lidského původu. Protože žádný test nemůže zajistit absenci infekčních činitelů v lidském materiálu, doporučujeme manipulovat s testovacími proužky Alegria® jako s možným infekčním materiálem.
- Bílkovina hovězího séra (BSA) použitá v komponentách byla otestována na BSE a to negativně.
- Vyhnete se kontaktu se substrátem TMB (3,3',5,5'-tetrametyl benzidin).
- Systémová kapalina obsahuje kyselinu, dle klasifikace je bezpečná. Zabraňte kontaktu s pokožkou.
- Kontrola, vzorkový roztok, extrakce média a mycí roztok obsahují 0.09% azidu sodného jako ochranný prostředek. Tato koncentrace je klasifikována jako bezpečná.
- Enzym konjugace, kontrola a vzorkový roztok obsahuje 0.05% ProClinu 300 jako ochranného prostředku. Tato koncentrace je klasifikována jako bezpečná.

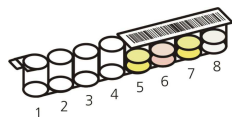
Během manipulace se všemi činidly, kontrolami vzorky séra sledujte stávající nařízení pro laboratorní bezpečnost a správnou laboratorní práci:

- První pomoc: V případě kontaktu s pokožkou ihned důkladně opláchněte vodou a saponátem. Sundejte kontaminovaný oděv a boty a před dalším použitím je omyjte. Dojde-li ke kontaktu systémové kapaliny s kůží, opláchnete důkladně vodou. Po kontaktu se zrakem důkladně oplachujte otevřené oči tekoucí vodou po dobu alespoň 10 minut. Půjde-li to bez obtíží, sundejte kontaktní čočky. Dýchací cesty: přemístěte osobu na čerstvý vzduch. Požití: vypláchněte ústa a tekutinu vyplivněte. Ihned vypijte 1 - 2 sklenice vody. Při nenuceném zvracení umístěte hlavu postiženého směrem k zemi při poloze těla na břiše, abyste zabránili vniknutí zvratků do dýchací trubice.
- Osobní opatření, ochranné vybavení a postup v případě nouze: Sledujte nařízení laboratorní bezpečnosti. Vyvarujte se kontaktu s pokožkou a očima. Nepožívejte. Nenasávejte ústy. Nejezte, nepijte, nekuřte nebo nenanášejte make up v oblastech, kde se manipuluje se vzorky nebo sadou činidel. Při vylití absorbujte inertním materiálem a políťte materiál řádně zlikvidujte.
- Limity vystavení / ochrana osob: Noste ochranné rukavice z nitrilové nebo z přírodního latexu. Noste ochranné brýle. Při používání dle určeného použití nejsou známy nebezpečné reakce.
- Situace, kterým je třeba předcházet: Roztok substrátu je citlivý na světlo. Proto skladujte proužky Alegria® na tmavém místě.
- Při likvidaci laboratorního odpadu je třeba dodržovat místní a národní předpisy. Dodržujte směrnici pro provádění řízení kvality ve zdravotnických laboratořích analyzačními kontrolami a/nebo sdruženými séry.

## OBSAH SOUPRAVY

24 ORG 284

ALEGRIA TEST STRIPS



Dostačuje pro 24

Alegria® testovací stripy: destička obsahující 12 modulů po 8 jamek.

Jamky 1 a 2: prázdné a bez činidla (jamky pro ředění vzorku)

Jamky 3 a 4: protilátková povrchová úprava (reakční jamky)

Jamky 5: **Kontrola:** žlutá; obsahuje Lactoferrin, PBS, BSA, detergent; ochranný prostředek azid sodný 0.09% a ProClin 300 0.05%.

Jamky 6: **Enzymový konjugát:** světle červená; obsahující protilátky anti-Lactoferrin, označeno HRP; PBS, BSA, detergent, ochranný prostředek ProClin 300 0.05%.

Jamky 7: **Vzorkový pufr:** žlutá; obsahuje PBS, BSA, detergent; ochranný prostředek azid sodný 0.09% a ProClin 300 0.05%.

Jamky 8: **TMB substrátový roztok:** 3,3', 5,5'- tetramethyl-benzidín.

Mikrojamky se povlečou protilátkami proti Lactoferrin.

Kód produktu na čárový kód: **Lactoferrin Stool**

WASH

1x 20 ml Promývací pufr; obsahuje Tris, detergent, ochranný prostředek azid sodný 0,09%; 50x koncentrát

SYSTEM FLUID

1x 2.5 ml Ředěná systémová kapalina; obsahuje kyselinu; 1000x koncentrát

EXTRACT

1x 20 ml **Extrakce média pro vzorky stolice;** obsahuje TBS, stabilizační protein, extrakční reagentii, konzervant azid sodný 0,09%. Připraveno k použití. **(F5126)**

i

1 Alegria® Pokyny pro použití: Alegria® Mini-DVD

i

1 Certifikát kontroly kvality

## POTŘEBNÉ VYBAVENÍ

- Vířový mixér, vibrační třepadlo, stolní odstředivka, volitelně: přesná měřidla
- mikropipety se špičkami na jedno použití na 10 µl
- destilovaná nebo deionizovaná voda
- odměrný válec na 1000 ml, 2500 ml

## POMOCNÉ IVD REAGENCIE

- F5126 **EXTRACT** Stool Extraction Medium; Tato složka kit je také prodává samostatně.

## DALŠÍ PŘÍSLUŠENSTVÍ

- ORG 282 Stool Extraction Tubes; obsahuje 100 tub.
- SSCO Stool Sample Collector

Tyto doplňky se prodávají zvlášť.

## SKLADOVÁNÍ A STABILITA

- Skladujte testovací sadu při 2-8°C na tmavém místě.
- Během skladování a používání nevystavujte činidla horku, slunečnímu záření nebo silnému světlu.
- Skladujte testovací proužky Alegria® hermeticky uzavřeny a v suchu v dodaném zásobníku.
- Uchovatelnost neotevřené testovací je 15 měsíců od data výroby. Neotevřená činidla jsou stabilní do konce expirace sady. Viz štítky pro individuální dávku.
- Rozředěný mycí roztok a systémová kapalina jsou stabilní minimálně 30 dní, jsou-li skladovány při 2-8°C. Pro přemístění do nádoby s činidlem doporučujeme spotřebovat v tentýž den.

## POZNÁMKY K PRACOVNÍMU POSTUPU

- Testovací sada nemůže být po uplynutí data použití používána.
- Veškerý materiál musí být ponechán před použitím při pokojové teplotě (20-28 st C).
- Aby se zabránilo kontaminaci, vyměňujte špičky mikropipet mezi vzorky.

## ODEBÍRÁNÍ VZORKŮ, JEJICH PŘÍPRAVA A UCHOVÁVÁNÍ

### Sběr vzorků stolice

Lze využít sběrač vzorku stolice "Stool Sample Collector" (SSCO)

- Vyhněte se kontaminaci se záchodovou vodou obsahující dezinfekci.
- Vzorky stolice neuchovávejte déle než 5 dní při 2-8 °C. Popřípadě skladujte při -20 °C.

## Příprava vzorku stolice

### Extrakce Lactoferrin pomocí trubičky "Stool Extraction Tube" (ORG 282)

Pro Alegria® Lactoferrin analýzu je nutné vzorek stolice naředit **1:50** v poskytnutém **EXTRACT**.

Nehomogenní vzorky lze homogenizovat před odebráním vzorku, například pomocí inokulační smyčky.

U tekutých vzorků stolice doporučujeme vzorek zvážit (viz metoda níže bez extrakční trubičky).

### 1 Příprava trubičky "Stool Extraction Tube" (ORG 282)

Vzorek stolice a **EXTRACT** musí mít pokojovou teplotu.

Nalijte **750 µl** **EXTRACT** do průhledné trubičky (část 1) a uzavřete pomocí stěrky (část 2) modrým závitovým uzávěrem na trubičce.

### 2 Odebrání vzorku stolice

Otevřete trubičku a vytáhněte stěrku na oranžovém závitovém uzávěru.

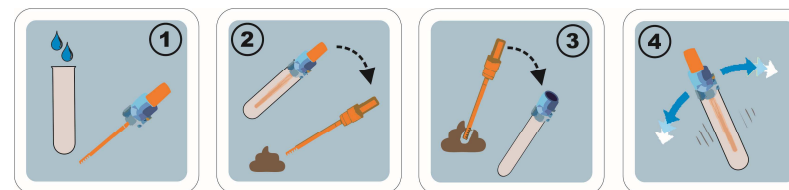
Odeberte vorek stolice zasunutím stěrky do stolice. Drážky na stěrce je nutné plně pokrýt vzorkem stolice. Výsledkem je odebrání **15 mg** stolice.

### 3 Díl vzorku stolice

Zatlačte oranžovou dávkovací lopatku do modré kuželové vložky ve zkumavce. Nadbytek stolice se oťfe o kuželovou vložku. Výsledný roztok je **1:50**.

### 4 Extrakce

Vířte 30 s při 1800 ot./min. pro odstranění vzorku stolice z drážek stěrky. Homogenizujte po dobu 15 minut při nejvyšší rychlosti třepačky.



Otevřete trubičku na modré kuželové vložce a přemístěte homogenát do mikrotrubičky. Odstředivte 2 min. při 3000xg. Přemístěte čistou tekutinu do další trubičky a **ihned** otestujte na Lactoferrin. Takový extrahovaný vzorek stolice lze skladovat při 2-8 °C až 3 dní.

### Extrakce bez trubičky "Stool Extraction Tube" (ORG 282)

- Vzorek stolice a **EXTRACT** musí mít pokojovou teplotu.
- Zvažte prázdnou trubičku. Odeberte vzorek stolice a přemístěte jej do trubičky. Zvažte jej a zjistěte čistou hmotnost vzorku.
- Nalijte **EXTRACT** do trubičky: 49násobkem čisté hmotnosti vzorku získáte roztok **1:50** dilution

vzorek stolice +	<b>EXTRACT</b>	vzorek stolice +	<b>EXTRACT</b>
15 mg	+ 0.75 ml	60 mg	+ 2.9 ml
20 mg	+ 1.0 ml	70 mg	+ 3.4 ml
30 mg	+ 1.5 ml	80 mg	+ 3.9 ml
40 mg	+ 2.0 ml	90 mg	+ 4.4 ml
50 mg	+ 2.5 ml	100 mg	+ 4.9 ml

Uzavřete trubičku. Vířte 30 s při 1800 ot./min. Homogenizujte po dobu 15 minut při nejvyšší rychlosti třepačky. Otevřete trubičku. Přemístěte homogenát do mikrotrubičky. Odstředivte 2 min. při 3000xg. Přemístěte čistou tekutinu do další trubičky a **ihned** otestujte na Lactoferrin.

## PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

WASH

Naředte obsah Promývacího pufru koncentrátu (50x) s destilovanou nebo deionizovanou vodou na konečný objem 1000ml (1l). Promývací roztok se poté přejele do výhradně k tomu určené nádoby. Pokud je třeba provést pouze jeden cyklus Alegria v jednom dni, doporučujeme transfer pouze 500 ml zředěného Promývacího pufru.

#### SYSTEM FLUID

Naředte obsah Ředěné systémové kapaliny koncentrátu (1000x) s destilovanou nebo deionizovanou vodou na konečný objem 2500ml před použitím. Systémová kapalina se následně přelije do připravené nádoby.

#### ALEGRIA TEST STRIPS

Vyjměte požadovaný počet testovacích proužků Alegria® ze zásobníku a nechejte je ohřát na pokojovou teplotu (20 -28°C). Nesundávejte fóliový obal prázdných jamek, dokud nebudete připraveni začít analýzu.

#### EXTRACT

Připraven k použití

### PŘÍPRAVA SLOŽEK

Testovací proužky Alegria® s technologií SMC® se používají s diagnostickým zařízením Alegria®.

Podrobné informace o obsluze nástroje naleznete v návodu k obsluze pro zařízení.

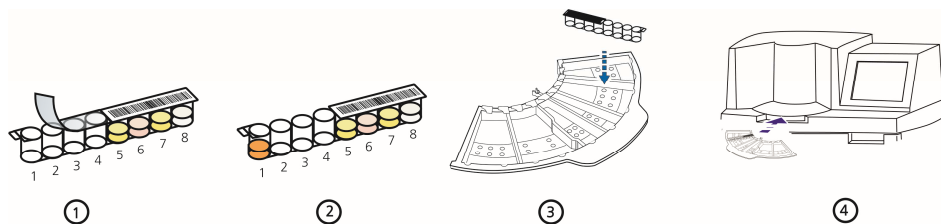
(1) Sejmout fólii, která pokrývá prázdné jamky 1 až 4 z potřebného testovacího proužku

**Fólie otištěná čárovým kódem, jenž pokrývá kavitu 5 až 8, není k sejmutí.**

(2) Na dno kavity 1 napipetovat jamky **100 µl** nezředěného vzorku pacienta.

(3) Vložte proužek do SysTray.

(4) Umístěte obsazený SysTrays do správné polohy v nástroji Alegria® a spusťte test. Všechny další kroky se provedou automaticky. Testovací chod je dokončen, když nástroj začne tisknout výsledky.



### KALIBRACE

Testovací systém je kalibrován pomocí referenčního přípravku laktoferinu z mateřského mléka.

### VÝPOČET VÝSLEDKU

Pomocí technologie SMC® (Senzotronicky zapamatovaná kalibrace) se všechna data převádí do systému pomocí individuálních čárových kódů na testovacím proužku Alegria®. Vyhodnocení a interpretace výsledků probíhá plně automaticky.

### PRACOVNÍ CHARAKTERISTIKY

#### Rozsah měření

Vypočet rozsahu analýzy Alegria® je 0 - 150 µg/g

#### Předpokládané hodnoty

V běžném rozsahu studie vzorků dárců zdravé byly stanoveny následující rozsahy pomocí analýzy: hranice hodnoty 7.2 µg/g

### INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Normální rozsah < 7.2 µg/g

Zvýšené hodnoty > 7.2 µg/g

Úroveň Lactoferrin v normálním rozsahu: Gastrostřevní zánět téměř vyloučen; následná opatření invazivní diagnostiky nejsou obecně vyžadovány.

Úroveň Lactoferrin zvýšena: organické onemocnění gastrostřevního traktu; doporučeny jsou okamžité intenzivní diagnostické testy a léčba specializovaným gastroenterologem.

### Linearita

Tři vzorky pacientů obsahující vysokou úroveň určité Lactoferrin byly sériově zředěny ve vzorkovém roztoku pro ukázkou dynamického rozsahu analýzy a horního / spodního konce linearity. Aktivita pro každý roztok byla spočítána pomocí SMC® technologie.

Vzorek	Ředění	Pozorovaná [µg/g]	Očekávaná [µg/g]	P/O [%]
1	1:20	122.7	122.7	100
	1:40	60.7	61.4	99
	1:80	30.0	30.7	98
	1:160	14.5	15.3	94
2	1:20	32.6	32.6	100
	1:40	14.6	16.3	90
	1:80	7.4	8.2	90
	1:160	4.0	4.1	97
3	1:20	63.4	63.4	100
	1:40	31.6	31.7	100
	1:80	15.7	15.9	97
	1:160	7.4	7.9	93

### Limit detekce

Nejnižší zjištělná koncentrace: 2.5 µg/g

### Reprodukovatelnost

Intraanalizační přesnost: Koeficient variace (CV) byl spočítán pro každý ze tří vzorků z výsledků 24 nálezů v jednom cyklu. Výsledky pro přesnost analýzy jsou uvedeny v tabulce níže.

Interanalizační přesnost: Koeficient variace (CV) byl spočítán pro každý ze tří vzorků z výsledků 6 nálezů při 5 různých cyklech. Výsledky přesnosti mezi cykly jsou uvedeny v tabulce níže.

Vzorek	Intra-Assay		Inter-Assay	
	Průměr [µg/g]	CV [%]	Průměr [µg/g]	CV [%]
1	15.0	5.8	26.1	5.7
2	23.9	9.1	31.8	5.8
3	77.3	7.7	81.7	10.8

### Interference

netestováno

### Výsledky studie

Study population	n	n_pos	%
Inflammatory bowel disease	235	209	88.9
abdominal disorders	132	4	3.0
healthy donors	9	0	0.0

		Klinická diagnóza		376
		Zvýšené	Normální	
ORG 284	Zvýšené	209	4	376
	Normální	26	137	
		235	141	
sensitivitát	88.9	%		
specifická	97.2	%		
diagnostická efektivita	92.0	%		

## HRANICE METODY

Toto vyšetření je diagnostická pomůcka. Definitivní klinická diagnóza by neměla být založena na výsledcích jediného testu, ale měly by být lékaři po všech klinických a laboratorních nálezech byly hodnoceny o celé klinický obrazem pacienta. Také každé rozhodnutí pro terapii by měla být přijata individuálně.

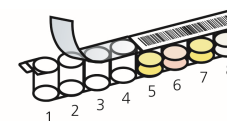
Výše uvedené referenční rozsahy patologických a normálních hodnot jsou uvedeny pouze jako doporučení. Každá laboratoř by si měla stanovit svá vlastní rozmezí podle normy ISO 15189 nebo jiné použitelné laboratorní pokyny.

Nesteroidní antiflogistika (NSAID) způsobují enteropatii až u 20-65 % pacientů, kteří jsou jimi léčeni. NSAID mohou způsobit zvýšenou koncentraci Lactoferrin ve stolici. V takových případech je nutno zvážit opakované vyšetření Lactoferrin ve stolici po ukončení léčby NSAID.

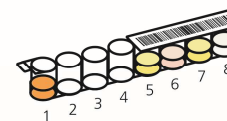
## REFERENCE

1. Lehmann, F.S., Burri, E., and Beglinger, C., The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease. *Therap. Adv. Gastroenterol.* 2015. 8: 23-36.
2. Zhou, X.L., Xu, W., Tang, X.X., Luo, L.S., Tu, J.F., Zhang, C.J., Xu, X., Wu, Q.D., and Pan, W.S., Fecal lactoferrin in discriminating inflammatory bowel disease from Irritable bowel syndrome: a diagnostic meta-analysis. *BMC Gastroenterol.* 2014. 14: 121.
3. Abraham, B.P. and Kane, S., Fecal markers: calprotectin and lactoferrin. *Gastroenterol. Clin North Am* 2012. 41: 483-495.
4. Caccaro, R., D'Inca, R., Pathak, S., and Sturniolo, G.C., Clinical utility of calprotectin and lactoferrin in patients with inflammatory bowel disease: is there something new from the literature? *Expert Rev Clin Immunol* 2012. 8: 579-585.
5. Judd, T.A., Day, A.S., Lemberg, D.A., Turner, D., and Leach, S.T., Update of fecal markers of inflammation in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol. Hepatol.* 2011. 26: 1493-1499.
6. Lewis, J.D., The utility of biomarkers in the diagnosis and therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2011. 140: 1817-1826.
7. Schoepfer, A.M., Trummel, M., Seeholzer, P., Seibold-Schmid, B., and Seibold, F., Discriminating IBD from IBS: comparison of the test performance of fecal markers, blood leukocytes, CRP, and IBD antibodies. *Inflamm. Bowel Dis.* 2008. 14: 32-39.
8. Sutherland, A.D., Geary, R.B., and Frizelle, F.A., Review of fecal biomarkers in inflammatory bowel disease. *Dis Colon Rectum* 2008. 51: 1283-1291.
9. Walker, T.R., Land, M.L., Kartashov, A., Saslowsky, T.M., Lyster, D.M., Boone, J.H., and Rufo, P.A., Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker of disease activity in children and young adults with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol. Nutr* 2007. 44: 414-422.
10. Tibble, J.A., Sigthorsson, G., Foster, R., Scott, D., Fagerhol, M.K., Roseth, A., and Bjarnason, I., High prevalence of NSAID enteropathy as shown by a simple faecal test. *Gut* 1999. 45: 362-366.

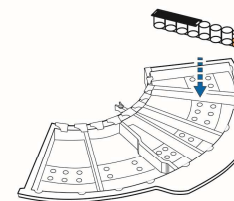
1



2



3



4

