

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
2016-07



ORG 286 Alpha-1-Antitrypsin

KRÁTKÝ POPIS

Alegria® Alpha-1-Antitrypsin je testovací systém ELISA pro kvantitativní měření Alpha-1-Antitrypsin ve vzorcích lidské stolice k použití při hodnocení zánětlivých střevních poruch. Tento výrobek je určen pouze pro profesionální in vitro diagnostiku.

Na vyhodnocení úrovně aktivity chronických zánětlivých onemocnění střev se používá stanovení koncentrace alfa-1 antitrypsinu ve stolici. Alfa-1 antitrypsin se vyskytuje ve stolici během úniku intestinálního proteinu nebo během zvýšení propustnosti střevní sliznice. Zvýšené hodnoty můžeme zaznamenat také při celiakii, polypech, divertikulitidě, rakovině tlustého střeva, alergii na potraviny atd.

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

Alpha-1-Antitrypsin obsažený ve vzorcích lidské stolice je třeba separovat ze stolice pomocí extrakčního média. Poté lze extrahovaný Alpha-1-Antitrypsin analyzovat pomocí analýzy Alegria® Calprotectin.

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: Alpha-1-Antitrypsin 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 přidáním 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.

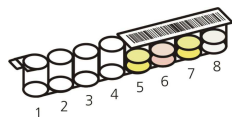
Během manipulace se všemi činidly, kontrolami vzorky séra sledujte stávající nařízení pro laboratorní bezpečnost a správnou laboratorní práci:

- 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 nenášejte make up v oblastech, kde se manipuluje se vzorky nebo sadou činidel. Při vylití absorbujte inertním materiálem a políty 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 286

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 Alpha-1-Antitrypsin, PBS, BSA, detergent; ochranný prostředek azid sodný 0.09% a ProClin 300 0.05%.

Jamky 6: **Enzymový konjugát:** světle červená; obsahující protilátky anti-Alpha-1-Antitrypsin, označeno HRP; PBS, BSA, detergent, ochranný prostředek ProClin 300 0.05%.

Jamky 7: **Vzorkový pufr:** žlutá; obsahuje TBS, stabilizační protein, EDTA, konzervant azid sodný 0,09%.

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

Mikrojамky se povlečou protilátkami proti Alpha-1-Antitrypsin.

Kód produktu na čárový kód: **alpha1 Antitr 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.

i

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

i

1 Certifikát kontroly kvality

POTŘEBNÉ VYBAVENÍ

- Vírový 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; obsahuje 100

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 po dobu 1 měsíce maximum.

Příprava vzorku stolice

Extrakce Alpha-1-Antitrypsin pomocí trubičky "Stool Extraction Tube" (ORG 282)

Pro Alegria® Alpha-1-Antitrypsin analýzu je nutné vzorek stolice naředít **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.

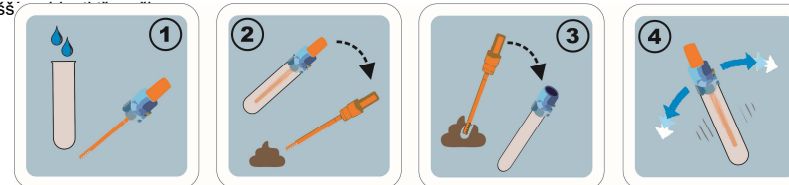
Odeberte vorek stolice zasunutím stěrky do stolice. Drážky na stěrce je nutné plně pokrýt vzorkem stolice. Výsledkem je odebrání **15 mg** stolice.

3 Díl vzorku stolice

Zatlačte oranžovou dávkovací lopatku do modré kuželové vložky ve zkumavce. Nadbytek stolice se oťe 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 Alpha-1-Antitrypsin.

Takový extrahovaný vzorek stolice lze skladovat při 2-8 °C až 5 dní nebo při -20 °C až 1 týden.

Extrakce Alpha-1-Antitrypsin 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 +	EXTRACT	vzorek stolice +	EXTRACT
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 Alpha-1-Antitrypsin. Takový extrahovaný vzorek stolice lze skladovat při 2-8 °C až 5 dní nebo při -20 °C až 1 týden.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

WASH

Naředte obsah Promývacího pufru koncentrátu (50x) s destilovanou nebo deionizovanou vodou na konečný objem

1000ml (1l). Promývací roztok se poté přeleje 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 zařízení.

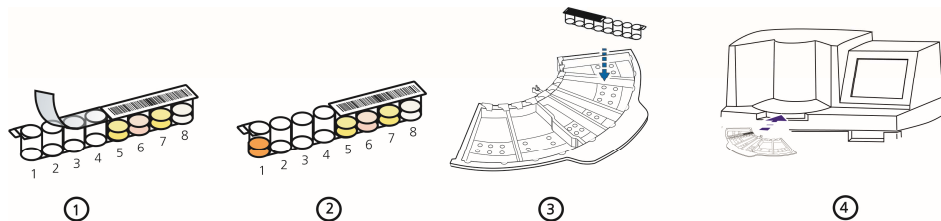
(1) Sejmout fólii, která pokrývá prázdné jamky 1 až 4 z potřebného testovacího proužku

Fólie otiskovaná čárkovým kódem, jenž pokrývá kavitu 5 až 8, není k sejmutí.

(2) Na dno kavity 1 napipetovat jamky 10 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 Alpha-1-Antitrypsin purifikovaného z lidských neutrofilů.

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 80 - 3600 µg/g

Předpokládané hodnoty

V běžném rozsahu studie vzorků dárců zdravé byly stanoveny následující rozsahy pomocí analýzy: hranice hodnoty 400 µg/g

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Normální rozsah < 400 µg/g
Zvýšené hodnoty ≥ 400 µg/g

Linearita

Tři vzorky pacientů obsahující vysokou úroveň určité Alpha-1-Antitrypsin byly sériově zředěny ve **Extrakce média** pro ukázkou dynamického rozsahu analýzy a horního / spodního konce linearitu. Aktivita pro každý roztok byla

spočítána pomocí SMC® technologie.

Vzorek	Ředění	Pozorovaná	Očekávaná	P/O
		[µg/g]	[µg/g]	[%]
1	1	2443.0	2443.0	100
	2	1168.8	1221.5	96
	4	581.5	610.8	95
	8	275.0	305.4	95
2	16	156.1	152.7	90
	1	2000.0	2000.0	100
3	2	1067.7	1000.0	107
	4	544.8	500.0	109
	8	266.5	250.0	107
	1	1671.5	1671.5	100
4	2	888.7	835.8	106
	4	445.2	417.9	107

Limit detekce

Nejnižší zjištělá koncentrace: 139 µg/g

Reprodukovatelnost

Intraanalyzáční přesnost: Koeficient variace (CV) byl spočítán pro každý ze tří vzorků z výsledků 20 nálezu v jednom cyklu. Výsledky pro přesnost analýzy jsou uvedeny v tabulce níže.

Interanalyzáční přesnost: Koeficient variace (CV) byl spočítán pro každý ze tří vzorků z výsledků 2 nálezu při 5 různých cyklech. Výsledky přesnosti mezi cykly jsou uvedeny v tabulce níže.

Intra-Assay		
Vzorek	Průměr	% CV
	[µg/g]	[%]
1	357.8	5.8
2	660.7	9.0
3	2777.0	6.6

Inter-Assay		
Vzorek	Průměr	% CV
	[µg/g]	[%]
1	433.7	5.0
2	2578.4	9.7
3	2736.2	8.7

Interference

Následující látky byly testovány na 15 mg vzorku stolice a bylo zjištěno, že neinterferují: vankomycin hydrochlorid 0,201 mg, ciprofloxacin 0,15 mg, prevazid 0,006 mg, azatioprin 0,021 mg, prednison 0,003 mg, pentasa 0,399 mg, vitamín A 2,4 UI, vitamín C 0,015 mg, vitamín E 0,03 mg, vitamín D3 0,33 UI, hemoglobin 1,749 mg.

Tyto mikroorganismy byly tetovány při 1,1 x 10⁷ CFU na 15 mg vzorku stolice a bylo zjištěno, že neinterferují: E. coli, Klebsiella pneumoniae, Salmonella enterica, Shigella flexneri, Yersinia enterocolitica.

Výsledky studie

		Porovnávací metoda		
		pos	neg	
Alpha-1-Antitrypsin	ORG 286 pos	52	1	171
	neg	1	117	
		53	118	
Pozitivní dohoda:		98.1	%	
Negativní dohoda:		99.2	%	
Celková dohoda:		98.8	%	

HRANICE METODY

Toto vyšetření je diagnostická pomůcka. Definitivní klinická diagnóza by neměla být založena na výsledcích

jediného testu, ale měly by být lékař po všech klinických a laboratorních nálezů byly hodnoceny o celé klinickým 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 Alpha-1-Antitrypsin ve stolici. V takových případech je nutno zvážit opakované vyšetření Alpha-1-Antitrypsin ve stolici po ukončení léčby NSAID.

Výsledky nad rozsahem měření (> 3600 µg/g): doporučujeme zředit extrahovaný vzorek stolice předběžně pomocí média na extrakci stolice, např. 1:5 a text zopakovat použitím 10 µl předběžného zředění v jamce 1 tak, jak je popsáno v části METODA TESTOVÁNÍ. Výsledek testu vynásobte faktorem ředění, např. faktorem 5.

REFERENCE

1. Rodriguez-Otero P, Porcher R, Peffault de LR, Contreras M, Bouhnik Y, Xhaard A, Andreoli A, Ribaud P, Kapel N, Janin A, Socie G and Robin M: "Fecal calprotectin and Alpha-1-Antitrypsin predict severity and response to corticosteroids in gastrointestinal graft-versus-host disease". *Blood* 2012. **119**: 5909-5917.
2. Hagen LE, Schechter T, Luk Y, Brodovitch A, Gassas A, Doyle JJ: "High Alpha-1-Antitrypsin clearance predicts severity of gut graft-versus-host disease (GVHD) in children". *Pediatr Transplant*. 2011;15(6):659-663.
3. Umar SB and DiBaise JK: "Protein-losing enteropathy: case illustrations and clinical review". *Am J Gastroenterol* 2010. **105**: 43-49.
4. Braamskamp MJ, Dolman KM, and Tabbers MM, Clinical practice: "Protein-losing enteropathy in children". *Eur J Pediatr* 2010. **169**: 1179-1185.
5. Biancone L, Onali S, Calabrese E, Petruzzello C, Zorzi F, Condino G, Sica GS, and Pallone F: "Non-invasive techniques for assessing postoperative recurrence in Crohn's disease". *Dig.Liver Dis* 2008. **40 Suppl 2**: S265-S270.
6. Faust D, Raschke K, Hormann S, Milovic V, Stein J: "Regulation of alpha-1-proteinase inhibitor release by proinflammatory cytokines in human intestinal epithelial cells". *Clin Exp Immunol*. 2002 May; 128(2):279-84.
7. Faust D, Spirchez Z, Armbruster FP, and Stein J: "Determination of alpha-1-proteinase inhibitor by a new enzyme linked immunosorbant assay in feces, serum and an enterocyte-like cell line". *Z.Gastroenterol* 2001. **39**: 769-774.
8. Becker K, Frieling T, and Haussinger D: "Quantification of fecal Alpha-1-Antitrypsin excretion for assessment of inflammatory bowel diseases". *Eur J Med Res* 1998. **3**: 65-70.
9. Choudhary S, Gibson PR, Deacon MC, Young GP: "Measurement of faecal Alpha-1-Antitrypsin: methodologies and clinical application". *J Gastroenterol Hepatol*. 1996 Apr;11(4):311-8.
10. Arndt B, Schürmann G, Betzler M, Herfarth C, Schmidt-Gayk H: "Assessment of Crohn's disease activity and alpha 1-antitrypsin in faeces". *Lancet*. 1992 Oct 24, 340(8826):1037.
11. Boege F and Fischbach W: "Structural heterogeneity of faecal Alpha-1-Antitrypsin shown by immunoblot analysis in patients with Crohn's disease". *Gut* 1991. **32**: 496-499.
12. Strygler B, Nicar MJ, Santangelo WC, Porter JL, Fordtran JS: "Alpha-1-Antitrypsin excretion in stool in normal subjects and in patients with gastrointestinal disorders". *Gastroenterology*. 1990 Nov; 99(5):1380-7.
13. Karbach U, Ewe K: "Enteric protein loss in various gastrointestinal diseases determined by intestinal Alpha-1-Antitrypsin clearance". *Z Gastroenterol*. 1989 Jul; 27(7):362-5.
14. Bjarnason I. Gastrointestinal safety of NSAIDs and over-the-counter analgesics. *Int J Clin Pract Suppl*. 2013 (178):37-42.
15. Bjarnason I, Zanelli G, Prouse P, Smethurst P, Smith T, Levi S, et al. Blood and protein loss via small-intestinal inflammation induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Lancet*. 1987;2(8561):711-4.

