

## 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 58-18

Internet: www.orgentec.com

Návod k použití










2014-06





## ORG 253 Anti-LKM-1

### KRÁTKÝ POPIS

Anti-LKM-1 je testovací systém dle ELISA pro kvantitativní měření IgG tříd protilátek proti type 1 liver-kidney microsomes (LKM-1) ve vzorcích lidského séra nebo plasmy. 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
	Připraven k použití



### PRINCIP TESTU

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 reagentů: enzymatický konjugát, enzymatický substrát, vzorek pufru a kontrolní vzorek specifický pro daný test. Na každém proužku jsou dále dvě jamky potažené antigenem, 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: protilátky přítomné v pozitivních vzorcích se naváží na antigen nanesený na povrch dvou reakčních jamek a vytvoří komplex protilátky a 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® (Sensotronic 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 zakódována 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.
- Komponenty obsahující lidské sérum byly otestovány a nebyly nalezeny HBsAg, HCV, HIV1 a HIV2 dle schválených metod FDA. Žádný test nemůže zaručit absenci HBsAg, HCV, HIV1 nebo HIV2 a je tedy nutno s každým lidským sérem, obsahujícím látku testu, manipulovat jako s 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 benzidín).
- Systémová kapalina obsahuje kyselinu, dle klasifikace je bezpečná. Zabraňte kontaktu s pokožkou.
- Kontrola, vzorkový roztok 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.

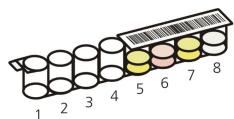
Během manipulace se všemi činidly, kontrolami vzorky séra sledujte stávající nařízení pro laboratorní bezpečnost a správnou laboratorní práci:

- 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, opláchněte důkladně vodou. Po kontaktu se zrakem důkladně opláchněte otevřené oči tekoucí vodou po dobu alespoň 10 minut. Dle potřeby vyhledejte lékařskou pomoc.
  - 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 polítlý 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 253  
▽ 12 ORG 253-12

ALEGRIA TEST STRIPS



Dostačuje pro 24  
Dostačuje pro 12

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: potažené příslušným antigenem (reakční jamky)

Jamky 5: Kontrola: žlutá; obsahuje protilátky pro konkrétní testy, PBS, BSA, detergent; ochranný prostředek azid sodný 0.09% a ProClin 300 0.05%.

Jamky 6: Enzymový konjugát: světle červená; obsahuje protilidské protilátky IgG, 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-benzidin.

Reakční jamky: potažené rekombinantní antigen LKM-1

Kód produktu na čárový kód: **LKM-1**

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

i

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

i

1 Certifikát kontroly kvality

## 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.

## POTŘEBNÉ VYBAVENÍ

- mixér Vortex
- mikropipety se špičkami na jedno použití na 10 µl
- destilovaná nebo deionizovaná voda
- odměrný válec na 1000 ml, 2500 ml

## ODEBÍRÁNÍ VZORKŮ, JEJICH PŘÍPRAVA A UCHOVÁVÁNÍ

- Krevní vzorky odebírat podle platných směrnic a metod.
- Krev nechat sražit a sérum získat odstředěním.
- Používání hemolitických, lipemických a ikterických sér je potřeba se vyhnout.
- Při teplotě 2 - 8 °C chlazené vzorky séra a plazmy mohou být skladovány až 5 dní. Je-li plánováno delší skladování, měly by být vzorky rozděleny na alikvotní části a při -20 °C hluboce zmrazeny.
- Vyhýbat se opakovanému rozmrazení a zmrazení! To může vést k variabilní ztrátě aktivity autoprotilátek nebo protilátek.
- Používání tepelně inaktivovaných sér se nedoporučuje.

## 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.

## 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.

## PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Testovací proužky Alegria® s technologií SMC® se používají s diagnostickým zařízením Alegria®. Podrobné informace o obsluze nástroje naleznete v návodu k obsluze pro zařízení.

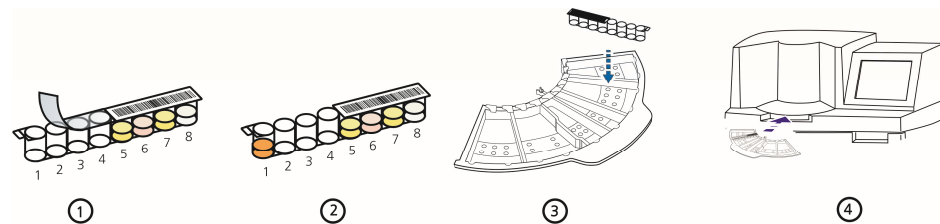
(1) Sejmout fólii, která pokrývá prázdné jamky 1 až 4 z potřebného testovacího proužku

**Fólie otištěná 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 tisknout výsledky.



## KALIBRACE

Tento analyzační systém je zkaližován v relativních smluvených jednotkách, protože nejsou k dispozici žádné mezinárodní referenční přípravky.

## 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 - 100 U/ml

### Předpokládané hodnoty

V běžném rozsahu studie vzorků séra dárců zdravé krve byly stanoveny následující rozsahy pomocí analýzy Alegria®: hranice hodnoty 10 U/ml

### Interpretace výsledků

negativní < 10 U/ml  
pozitivní ≥ 10 U/ml

## Linearita

Tři vzorky pacientů obsahující vysokou úroveň určité protilátky 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	Očekávaná	P/O
		[U/ml]	[U/ml]	[%]
1	1:100	102.3	100.0	102
.	1:200	53.9	50.0	108
.	1:400	28.0	25.0	112
.	1:800	13.0	12.5	104
2	1:100	107.2	100.0	107
.	1:200	46.6	50.0	93
.	1:400	23.6	25.0	94
.	1:800	12.9	12.5	103
3	1:100	50.4	100.0	101
.	1:200	23.8	50.0	95
.	1:400	12.4	25.0	100
.	1:800	6.3	12.5	101

## Limit detekce

Funkční citlivost 0.5 U/ml

## Reprodukovatelnost

Intraanalizační přesnost: Koeficient variace (CV) byl spočítán pro každý ze tří vzorků z výsledků 24 nálezu 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 nálezu při 5 různých cyklech. Výsledky přesnosti mezi cykly jsou uvedeny v tabulce níže.

Intra-Assay		
Vzorek	Průměr U/ml	% CV
1	12.7	2.1
2	23.3	2.8
3	51.1	5.3

Inter-Assay		
Vzorek	Průměr U/ml	% CV
1	16.7	4.4
2	27.5	5.2
3	41.7	4.5

## Interference

Nebyla pozorována žádná interference se séry, která byla hemolytická (až do 1 000 mg/dl), lipemická (až do 3g/dl triglyceridů) nebo obsahovala bilirubin (až 40 mg/dl). Taktéž nebyly pozorovány žádné efekty interference s použitím antikoagulantů (EDTA, heparin, citrát).

## Výsledky studie

Study population	n	n_pos	%
Autoimmune hepatitis (AIH)	129	32	24.8
rheumatoid disorders	159	4	2.5
coeliac disease	83	0	0.0
normal human sera	90	1	1.1

		Klinická diagnóza		
		pozitivní	negativní	
ORG 253	pozitivní	32	5	461
Anti-LKM-1	negativní	97	327	
senitivitát	24.8 %	129	332	

specificita 98.5 %  
diagnostická efektivita 77.9 %

## 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 nálezu byly hodnoceny o celé klinický obrazem pacienta. Také každé rozhodnutí pro terapii by měla být přijata individuálně.

Výše patologické a normální referenční rozmezí pro protilátek u vzorků pacientů je třeba považovat za doporučení pouze. Každá laboratoř by si měla stanovit svá vlastní rozmezí podle normy ISO 15189 nebo jiné použitelné laboratorní pokyny.

## REFERENCE

- F. Alvarez, P. A. Berg, F. B. Bianchi, L. Bianchi, A. K. Burroughs, E. L. Cancado, R. W. Chapman, W. G. Cooksley, A. J. Czaja, V. J. Desmet, P. T. Donaldson, A. L. Eddleston, L. Fainboim, J. Heathcote, J. C. Homberg, J. H. Hoofnagle, S. Kakumu, E. L. Krawitt, I. R. Mackay, R. N. MacSween, W. C. Maddrey, M. P. Manns, I. G. McFarlane, K. H. Meyer zum Buschenfelde, M. Zeniya, and . International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol.* 31 (5):929-938, 1999.
- M. Baeres, J. Herkel, A. J. Czaja, I. Wies, S. Kanzler, E. L. Cancado, G. Porta, M. Nishioka, T. Simon, C. Daehrich, W. Schlumberger, P. R. Galle, and A. W. Lohse. Establishment of standardised SLA/LP immunoassays: specificity for autoimmune hepatitis, worldwide occurrence, and clinical characteristics *Gut* 51 (2):259-264, 2000
- D. P. Bogdanos, D. Gilbert, I. Bianchi, S. Leoni, R. R. Mity, Y. Ma, G. Mieli-Vergani, and D. Vergani. Antibodies to soluble liver antigen and alpha-enolase in patients with autoimmune hepatitis. *J Autoimmune Dis* 1 (1):4, 2004.
- D. P. Bogdanos, P. Invernizzi, I. R. Mackay, and D. Vergani. Autoimmune liver serology: Current diagnostic and clinical challenges. *World J Gastroenterol.* 14 (21):3374-3387, 2008.
- D. P. Bogdanos and L. Komorowski. Disease-specific autoantibodies in primary biliary cirrhosis. *Clin Chim Acta* 412 (7-8):502-512, 2011.
- D. P. Bogdanos, C. Liaskos, A. Pares, G. Norman, E. I. Rigopoulou, L. Caballeria, G. N. Dalekos, J. Rodes, and D. Vergani. Anti-gp210 antibody mirrors disease severity in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 45 (6):1583-1584, 2007.
- D. P. Bogdanos, G. Mieli-Vergani, and D. Vergani. Autoantibodies and their antigens in autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis* 29 (3):241-253, 2009.
- A. J. Czaja. Autoimmune hepatitis and viral infection *Gastroenterol.Clin North Am* 23 (3):547-566, 1994.
- A. J. Czaja, H. A. Carpenter, and M. P. Manns. Antibodies to soluble liver antigen, P450IID6, and mitochondrial complexes in chronic hepatitis. *Gastroenterology* 105 (5):1522-1528, 1993.
- A. J. Czaja and H. A. Homburger. Autoantibodies in liver disease. *Gastroenterology* 120 (1):239-249, 2001.
- A. Granito, L. Muratori, P. Muratori, G. Pappas, M. Guidi, F. Cassani, U. Volta, A. Ferri, M. Lenzi, and F. B. Bianchi. Antibodies to filamentous actin (F-actin) in type 1 autoimmune hepatitis. *J Clin.Pathol.* 59 (3):280-284, 2006.
- M. Gueguen, M. Meunier-Rotival, O. Bernard, and F. Alvarez. Anti-liver kidney microsome antibody recognizes a cytochrome P450 from the IID subfamily. *J Exp Med* 168 (2):801-806, 1988.
- C. J. Hu, F. C. Zhang, Y. Z. Li, and X. Zhang. Primary biliary cirrhosis: what do autoantibodies tell us? *World J Gastroenterol.* 16 (29):3616-3629, 2010.
- E. L. Krawitt. Autoimmune hepatitis. *N.Engl.J Med* 354 (1):54-66, 2006.
- M. Lenzi, P. Manotti, L. Muratori, M. Cataleta, G. Ballardini, F. Cassani, and F. B. Bianchi. Liver cytosolic 1 antigen-antibody system in type 2 autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection. *Gut* 36 (5):749-754, 1995.
- G. Maggiore, S. Riva, and M. Sciveres. Autoimmune diseases of the liver and biliary tract and overlap syndromes in childhood *Minerva Gastroenterol.Dietol.* 55 (1):53-70, 2009.
- M. P. Manns and A. Vogel. Autoimmune hepatitis, from mechanisms to therapy. *Hepatology* 43 (2 Suppl 1): S132-S144, 2006.
- L. Muratori, A. Granito, P. Muratori, G. Pappas, and F. B. Bianchi. Antimitochondrial antibodies and other antibodies in primary biliary cirrhosis: diagnostic and prognostic value. *Clin Liver Dis* 12 (2):261-276, 2008.
- P. Muratori, A. Granito, G. Pappas, G. M. Pendino, C. Quarneri, R. Cicola, R. Menichella, S. Ferri, F. Cassani, F. B. Bianchi, M. Lenzi, and L. Muratori. The serological profile of the autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome *Am J Gastroenterol.* 104 (6):1420-1425, 2009.
- P. Obermayer-Straub, C. P. Strassburg, and M. P. Manns. Autoimmune hepatitis. *J Hepatol.* 32 (1 Suppl):181

-197, 2000.

21. E. I. Rigopoulou, M. Mytilinaiou, O. Romanidou, C. Liaskos, and G. N. Dalekos. Autoimmune hepatitis-specific antibodies against soluble liver antigen and liver cytosol type 1 in patients with chronic viral hepatitis. *J Autoimmune.Dis* 4:2, 2007.
22. D. Vergani, F. Alvarez, F. B. Bianchi, E. L. Cancado, I. R. Mackay, M. P. Manns, M. Nishioka, and E. Penner. Liver autoimmune serology: a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group *J Hepatol.* 41 (4):677-683, 2004.
23. D. Villalta, N. Bizzaro, Re M. Da, R. Tozzoli, L. Komorowski, and E. Tonutti. Diagnostic accuracy of four different immunological methods for the detection of anti-F-actin autoantibodies in type 1 autoimmune hepatitis and other liver-related disorders. *Autoimmunity* 41 (1):105-110, 2008.
24. I. Wies, S. Brunner, J. Henninger, J. Herkel, S. Kanzler, K.H., and A. W. Lohse. Identification of target antigen for SLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis. *Lancet* 355 (9214):1510-1515, 2000.
25. H. J. Worman and J. C. Courvalin. Antinuclear antibodies specific for primary biliary cirrhosis. *Autoimmun.Rev* 2 (4):211-217, 2003.
26. K. Zachou, E. Rigopoulou, and G. N. Dalekos. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis: important tools in clinical practice and to study pathogenesis of the disease. *J Autoimmune.Dis* 1 (1):2, 2004.
27. A. Zamanou, A. Tsirogianni, C. Terzoglou, A. Balafas, I. Economidou, and P. Lymberi. Anti-smooth muscle antibodies (ASMA) and anti-cytoskeleton antibodies (ACTAs) in liver diseases: a comparison of classical indirect immunofluorescence with ELISA. *J.Clin Lab Anal.* 16 (4):194-201, 2002.

