

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

2014-06



ORG 231 Anti-Parietal Cell

KRÁTKÝ POPIS

Anti-Parietal Cell je testovací systém dle ELISA pro kvantitativní měření IgG tříd protilátek proti parietal cell H+/K+-ATPase 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 TEST STRIPS	Alegria® Testovací stripy
WASH	Promývací pufr
SYSTEM FLUID	Systémová kapalina
RTU	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 přidán enzymatický konjugát 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 látky testu, manipulovat jako s infekčním materiálem.
- Bílkovina hovězího séra (BSA) použitá v komponentách byla otestována na BSE a to negativně.
- Vyhněte 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 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:

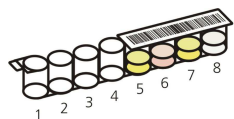
- První pomoc: V případě kontaktu s pokožkou ihned důkladně opláchněte vodou a saponátem. Sundejte kontaminovaný oděv a boty a před dalším použitím je omyjte. Dojde-li ke kontaktu systémové kapaliny s kůží, opláchnete důkladně vodou. Po kontaktu se zrakem důkladně opláchněte otevřené oči tekoucí vodou 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 poltý 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 231-24

▽ 12 ORG 231-12

ALEGRIA TEST STRIPS



WASH

Dostačuje pro 24

Dostačuje pro 12

Alegria® testovací strip: 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 čistěným antigenem parietal cell H+/K+-ATPase

Kód produktu na čárový kód: **Pariet Cell**

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 nádob 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 ikerických 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.

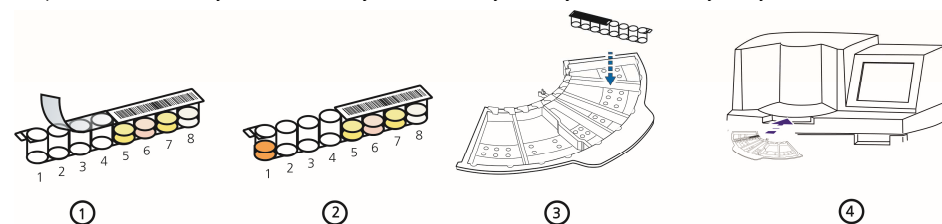
(1) Sejmout fólii, která pokrývá prázdné jamky 1 až 4 z potřebného testovacího proužku

Fólie otištěná čárovým 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 SysTray 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 kalibrován v relativních smluvních 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

Linearity

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	88.5	88.5	100
.	1:200	43.1	44.3	97
.	1:400	20.9	22.1	94
.	1:800	12.7	11.1	115
2	1:100	93.6	93.6	100
.	1:200	44.2	46.8	94
.	1:400	25.6	23.4	109
.	1:800	13.6	11.7	116
3	1:100	80.1	80.1	100
.	1:200	37.9	40.1	95
.	1:400	21.2	20.0	106
.	1:800	9.8	10.0	98

Limit detekce

Funkční citlivost 0.5 U/ml

Reprodukovatelnost

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

Intra-Assay			Inter-Assay		
Vzorek	Průměr U/ml	% CV	Vzorek	Průměr U/ml	% CV
1	12.3	1.5	1	15.9	6.2
2	23.7	0.5	2	37.4	6.0
3	94.3	4.2	3	85.5	3.5

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 antikoagulancií (EDTA, heparin, citrát).

Výsledky studie

Study population		n	n pos	%
Pernicious anaemia		85	63	74.1
Normal human sera		100	3	3.0
Klinická diagnóza				
ORG 231 Anti-Parietal Cell	pozitivní	63	3	185
	negativní	22	97	
		85	100	
senitivitát	74.1	%		
specificita	97.0	%		
diagnostická efektivita	86.5	%		

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 klinickým 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

1. Irvine, W. J., Davies, S. H., Delamore, I. W., Williams, A. W. Immunological relationship between pernicious anemia and thyroid disease. Br. Med. J. 1962, pp. 454-456.
2. Taylor, K. B., Roitt, I. M., Doniach, D., Couchman, K. G., Shapland, C. Autoimmune phenomena in pernicious anemia: gastric antibodies. Br. Med. J. 1962, pp. 1347-1352.
3. Rabon, E. C. and Reuben M. A. The mechanism and structure of the gastric H+/K+-ATPase Annu. Rev. Physiol. 1990, No. 52, pp. 321-344
4. Pedersen, P. L. and Carfoli, E. Ion motive ATPases. I. Ubiquity properties and significance to cell function. Trends Biochem Sci 1987, No. 12, pp. 146-149.
5. Van Driel, I. R., Callaghan, J. M. Proton and potassium transport by H+/K+-ATPase. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 1995.
6. Irvine, W. J., Cullen, D. R., Mawhinney, H. Natural history of autoimmune achlorhydric atrophic gastritis. A 1-15 year follow up study. Lancet 1974, No. 2, pp. 482-485.
7. Whittingham, S., Mackay, I. R. Pernicious anemia and gastric atrophy. In: Rose, N. R., Mackay, I. R. eds. The Autoimmune Diseases. New York, Academic Press 1985, pp. 243-266.
8. Uibo, R., Krohn, K., Villako, K., Tammur, T., Tamm, A. The relationship of parietal cell, gastrin cell and thyroid autoantibodies to the state of the gastric mucosa in a population sample. Scand. J. Gastroenterol. 1984, No. 19, pp. 1075-1080.
9. Varis, K., Ihamako, T., Harkonen, M., Samloff, I. M., Siurala, M. Gastric morphology, function and immunology in first degree relatives of probands with pernicious anemia and controls. Scand. J. Gastroenterol. 1979, No. 14, pp. 129-139.
10. Lahner E, Annibale B: Pernicious anemia: new insights from a gastroenterological point of view. World J Gastroenterol. 2009, 15:5121-5128.
11. De Block CE, De L, I, Van Gaal LF: Autoimmune gastritis in type 1 diabetes: a clinically oriented review. J Clin. Endocrinol. Metab 2008, 93:363-371.
12. Jassel SV, Ardill JE, Fillmore D, Bamford KB, O'Connor FA, Buchanan KD: The rise in circulating gastrin with age is due to increases in gastric autoimmunity and Helicobacter pylori infection. QJM. 1999, 92:373-377.
13. Carmel R: Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. Clin. Exp. Immunol 1992, 89:74-77.
14. Burman P, Karlsson FA, Löf L, Szesci PB, Borch K: H+,K+-ATPase Antibodies in Autoimmune Gastritis: Observations on the Development of Pernicious Anemia. J Gastroenterol 1991, 26:207-214.
15. Gleeson PA, Toh B-H: Molecular targets in pernicious anaemia. Immunology Today 1991, 12:233-238.

