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 236M Anti-Phosphatidyl Inositol IgM

KRÁTKÝ POPIS

Anti-Phosphatidyl Inositol IgM je testovací systém dle ELISA pro kvantitativní měření IgM tříd protilátek proti phosphatidyl inositol ve vzorcích lidského séra nebo plasmy. Tento výrobek je určen pouze pro profesionální in vitro diagnostiku.

POUŽÍVANÉ SYMBOLI

IVD	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Výrobce
REF	Katalogové číslo
Σ 24	Dostačuje pro
LOT	Kód šarže
	Spotřebujte do
2°C 8°C	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 reagencií: 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 navážou 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 přidaný 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 hydrolýze 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 exspirace 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 analyzátorem 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 exspirace 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 oplachujte 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, nepije, nekuřte nebo nenanášejte make up v oblastech, kde se manipuluje se vzorky nebo sadou činidel. Při vylití absorbujte inertním materiálem a politý materiál řádně zlikvidujte.

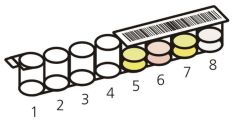
- Limity vystavení / ochrana osob: Noste ochranné rukavice z nitrilové nebo z přírodního latexu. Noste ochranné brýle. Při používání dle určeného použití nejsou známy nebezpečné reakce.
- Situace, kterým je třeba předcházet: Roztok substrátu je citlivý na světlo. Proto skladujte proužky Alegria® na tmavém 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

Σ 24	ORG 236M-24	Dostačuje pro 24
Σ 12	ORG 236M-12	Dostačuje pro 12

ALEGRIA TEST STRIPS



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 IgM, 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 čištěný antigen phosphatidyl inositol saturated with beta-2-glycoprotein I
Kód produktu na čárový kód: ***Phosph Inosit IgM***

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

Nařeďte 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

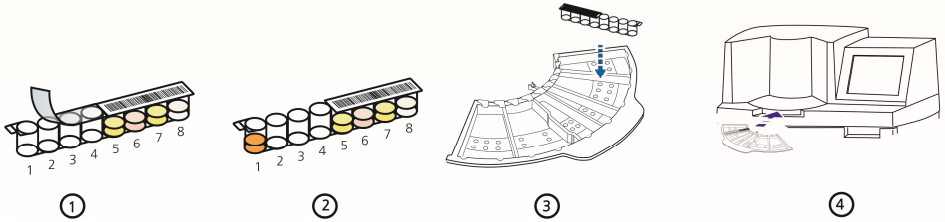
Nařeďte obsah Ředěné systémové kapaliny koncentrátu (1000x) s destilovanou nebo deionizovanou vodou na konečný objem 2500ml před použitím. Systémová kapalina se následně přelije do připravené nádoby.

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 používaní 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 začne tisknout výsledky.



KALIBRACE

Kalibrace se vztahuje k mezinárodně uznávané referenčního séra od E.N. Harris, Louisville a IRP 97/656 (IgG) a HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM).

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 MPL-U/ml

Předpokládané hodnoty

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

Interpretace výsledků

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

Linearita

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

Vzorek	Ředění	Pozorovaná	Očekávaná	P/O
		[MPL-U/ml]	[MPL-U/ml]	[%]
1	1:100	87.4	87.4	100
.	1:200	44.6	43.7	102
.	1:400	22.6	21.9	103
.	1:800	11.0	10.9	101
2	1:100	63.2	63.2	100
.	1:200	30.2	31.6	96
.	1:400	15.6	15.8	99
.	1:800	8.1	7.9	103
3	1:100	51.1	51.1	100
.	1:200	25.0	25.6	98
.	1:400	12.9	12.8	101
.	1:800	6.3	6.4	99

Limit detekce

Funkční citlivost 0.5 MPL-U/ml

Reprodukovatelnost

Intraanalyzační 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.
Interanalyzační 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.

Intra-Assay		
Vzorek	Průměr MPL-U/ml	% CV
1	12.3	2.0
2	27.6	2.4
3	55.9	4.7

Inter-Assay		
Vzorek	Průměr MPL-U/ml	% CV
1	12.4	2.6
2	27.9	5.1
3	57.0	9.7

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	%
Primary APS	8	4	50.0
Secondary APS	65	22	33.8
Normal human sera	150	4	2.7

		Klinická diagnóza		
		pozitivní	negativní	
ORG 236M	pozitivní	26	4	
Anti-Phosphatidyl Inositol IgM	negativní	47	146	
		73	150	223

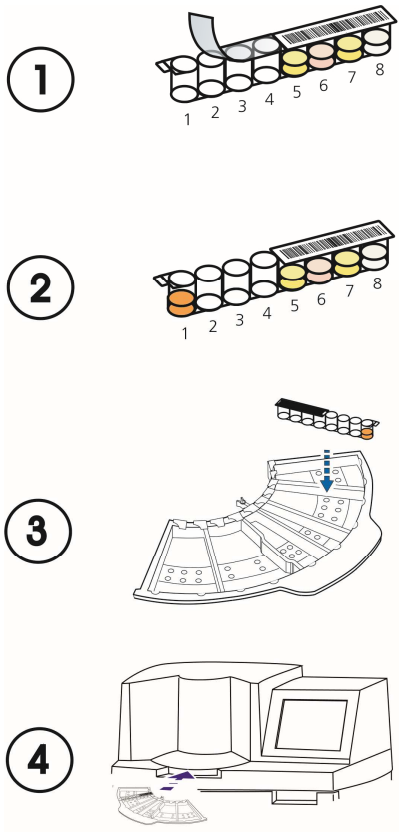
senitivität 35.6 %
specificita 97.3 %

diagnostická efektivita 77.1 %

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 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 laboratory pokyny.

REFERENCE

1. Banzato A, Pozzi N, Frasson R, De F, V, Ruffatti A, Bison E et al. Antibodies to Domain I of beta(2)Glycoprotein I are in close relation to patients risk categories in Antiphospholipid Syndrome (APS). Thromb Res 2011; 128 (6):583-6.
2. Bertolaccini ML, Amengual O, Atsumi T, Binder WL, de LB, Forastiero R et al. 'Non-criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Galveston, TX, USA, April 2010. Lupus 2011; 20(2):191-205.
3. de Laat B, de Groot PG. Autoantibodies directed against domain I of beta2-glycoprotein I. Curr Rheumatol Rep 2011; 13(1):70-6.
4. de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. Nat Clin Pract Rheumatol 2008; 4(4):192-9.
5. de Laat B, Pengo V, Pabinger I, Musial J, Voskuyl AE, Bultink IE et al. The association between circulating antibodies against domain I of beta2-glycoprotein I and thrombosis: an international multicenter study. J Thromb Haemost 2009; 7(11):1767-73.
6. Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid syndrome. Arthritis Res Ther 2008; 10(6):230.
7. Favaloro EJ, Wong RC. Laboratory testing for the antiphospholipid syndrome: making sense of antiphospholipid antibody assays. Clin Chem Lab Med 2011; 49(3):447-61.
8. Fischer MJ, Rauch J, Levine JS. The antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 2007; 27(1):35-46.
9. Giannakopoulos B, Passam F, Ioannou Y, Krilis SA. How we diagnose the antiphospholipid syndrome. Blood 2009; 113(5):985-94.
10. Greaves M, Cohen H, Machin SJ, Mackie I. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 2000; 109(4):704-15.
11. Hughes GR. Hughes syndrome: antiphospholipid syndrome. J R Coll Physicians Lond 1998; 32(3):260-4.
12. Hughes GR. Hughes Syndrome (the antiphospholipid syndrome): ten clinical lessons. Autoimmun Rev 2008; 7 (3):262-6.
13. Hughes GR. Antiphospholipid syndrome, migraine and stroke. Lupus 2010; 19(5):555-6.
14. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. J Rheumatol 1986; 13(3):486-9.
15. Koike T, Bohgaki M, Amengual O, Atsumi T. Antiphospholipid antibodies: lessons from the bench. J Autoimmun 2007; 28(2-3):129-33.
16. Lakos G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Arthritis Rheum 2012; 64(1):1-10.
17. Mackworth-Young C. Primary antiphospholipid syndrome: a distinct entity? Autoimmun Rev 2006; 5(1):70-5.
18. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 2006; 4(2):295-306.
19. Molina JF, Gutierrez-Urena S, Molina J, Uribe O, Richards S, De CC et al. Variability of anticardiolipin antibody isotype distribution in 3 geographic populations of patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol 1997; 24(2):291-6.
20. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiprothrombin antibody testing: detection and clinical utility. Semin Thromb Hemost 2008; 34(4):335-9.
21. Pengo V, Biasiolo A, Bison E, Chantarangkul V, Tripodi A. Antiphospholipid antibody ELISAs: survey on the performance of clinical laboratories assessed by using lyophilized affinity-purified IgG with anticardiolipin and anti-beta2-Glycoprotein I activity. Thromb Res 2007; 120(1):127-33.
22. Pierangeli SS, de Groot PG, Dlott J, Favaloro E, Harris EN, Lakos G et al. 'Criteria' aPL tests: report of a task force and preconference workshop at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies,

Galveston, Texas, April 2010. Lupus 2011; 20(2):182-90.
23. Pierangeli SS, Favaloro EJ, Lakos G, Meroni PL, Tincani A, Wong RC et al. Standards and reference materials for the anticardiolipin and anti-beta-2-glycoprotein I assays: a report of recommendations from the APL Task Force at the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2):358 -60.
24. Sinico RA, Bollini B, Sabadini E, Di Toma L, Radice A. The use of laboratory tests in diagnosis and monitoring of systemic lupus erythematosus. J Nephrol JID - 9012268 2002; 15 Suppl 6:S20-S27.
25. Tincani A, Andreoli L, Casu C, Cattaneo R, Meroni P. Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. Lupus 2010; 19(4):432-5.
26. Tincani A, Morozzi G, Afeltra A, Alessandri C, Allegri F, Bistoni O et al. Antiprothrombin antibodies: a comparative analysis of homemade and commercial methods. A collaborative study by the Forum Interdisciplinare per la Ricerca nelle Malattie Autoimmuni (FIRMA). Clin Exp Rheumatol 2007; 25(2):268-74.
27. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 1999; 42(7):1309-11.
28. Wong RC, Favaloro EJ, Adelstein S, Baumgart K, Bird R, Brighton TA et al. Consensus guidelines on anti-beta 2 glycoprotein I testing and reporting. Pathology 2008; 40(1):58-63.
29. Wong RC, Gillis D, Adelstein S, Baumgart K, Favaloro EJ, Hendle MJ et al. Consensus guidelines on anti-cardiolipin antibody testing and reporting. Pathology 2004; 36(1):63-8.