

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 916A Anti-B. pertussis Toxin IgA

KRÁTKÝ POPIS

Alegria® Anti-B. pertussis Toxin IgA je testovací systém dle ELISA pro kvantitativní měření IgA tříd protilátek proti Toxinu černého kašle ve vzorcích lidského séra nebo plasmu. 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 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.
- 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.

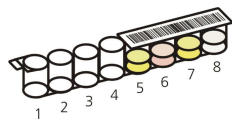
Během manipulace se všemi činidly, kontrolami vzorky séra sledujte stávající nařízení pro laboratorní bezpečnost a správnou laboratorní práci:

- 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 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 916A

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: 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 IgA, 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 nativním inaktivovanou toxinu černého kašle

Kód produktu na čárový kód: **B pert toxin IgA**

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

WASH

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

SYSTEM FLUID

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

i

1 Certifikát kontroly kvality

i

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 hemolítických, 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 autoprotiátek nebo protiátek.
- 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 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 nechte 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.

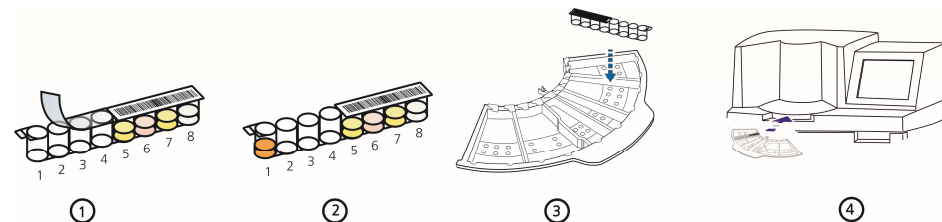
(1) Sejmout fólii, která pokrývá prázdné jamky 1 až 4 z potřebného testovacího proužku

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 začne tisknout výsledky.



KALIBRACE

Test Systém je kalibrován proti mezinárodní referenční přípravě WHO (NIBSC code 06/140 + 06/142).

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 - 60 IU/ml

Hranice hodnoty

Cut-off tohoto testu Alegria® je: 12 IU/ml

Interpretace výsledků

negativní < 12 IU/ml
pozitivní ≥ 12 IU/ml

Evropský konsensus o referenčních laboratořích navrhuje dvoufázový cutoff [3]. To však lze použít pouze v případě, že pacient není imunizován acelulární očkovací látkou během posledních 12 měsíců.

Anti-B. pertussis Toxin

IgG < 50 IU/ml IgA < 12 IU/ml
 IgG < 50 IU/ml IgA ≥ 12 IU/ml
 IgG 50 - 120 IU/ml IgA < 12 IU/ml
 IgG 50 - 120 IU/ml IgA ≥ 12 IU/ml
 IgG > 120 IU/ml

Interpretace

Žádné stopy po nedávném kontaktu s B. pertussis
 Žádné stopy po nedávném kontaktu s B. pertussis*
 Žádné stopy po nedávném kontaktu s B. pertussis*
 Přihlásit se nedávného kontaktu s B. pertussis
 Přihlásit se nedávného kontaktu s B. pertussis

*sledování vzorek doporučuje, pokud klinické podezření přetrvává

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 rozmezí by mělo být považováno pouze za orientační. Doporučuje se, aby si každá laboratoř stanovila své vlastní normální a patologické rozsahy pro protilátka v vzorků pacientů.

Negativní výsledek nevylučuje infekci, protože sérum může být odebrán příliš brzy na stanovení protilátek být zjistitelný. Pozitivní výsledek nevylučuje přítomnost jiné infekční patogen jako příčinu onemocnění.

Linearita

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

Vzorek	Ředění	Pozorovaná [IU/ml]	Očekávaná [IU/ml]	P/O [%]
1	1:100	47.1	47.1	100
.	1:200	23.0	23.5	98
.	1:400	12.2	11.8	104
.	1:800	6.9	5.9	117
06/140	1:100	60.0	65.0	92
.	1:200	33.6	32.5	103
.	1:400	17.1	16.3	105
.	1:800	9.3	8.1	115
06/142	1:100	17.0	18.0	94
.	1:200	8.1	9.0	90
.	1:400	4.4	4.5	98

Limit detekce

Minimální množství zjistitelných protilátek je 2.9 IU/ml

Reprodukovatelnost

Intraanalýzační 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.

Interanalýzační 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 [IU/ml]	% CV [%]
1	9.4	4.5
2	12.2	3.6
3	42.6	7.4

Inter-Assay		
Vzorek	Průměr [IU/ml]	% CV [%]
1	8.5	6.5
2	12.8	3.8
3	42.1	8.3

Interference

Nebyla pozorována žádná interference se séry, která byla hemolytická (až do 1 000 mg/dl), lipemická (až do 1.5

g/dl triglyceridů) nebo obsahovala bilirubin (až 40 mg/dl). Nicméně z praktických důvodů se doporučuje, aby hrubě Hemolyzované nebo lipemické vzorky je třeba se vyhnout. Taktéž nebyly pozorovány žádné efekty interference s použitím antikoagulancií (EDTA, heparin, citrát).

Interference byla pozorována u infekce *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* nebo akutní infekce EBV. Ani žádné rušivé účinky byly pozorovány u revmatických onemocnění spojených se zvýšenou titrů autoprotilátek, jako jsou revmatoidní faktory a protilátky antinukleárních.

Séroprevalence

Analýza 100 dárců zdravé krve z Německa ukázala 5 pozitivních výsledků rovných 5% séroprevalenci.

Výsledky studie

		Porovnávací metoda		
		pozitivní	negativní	
ORG 916A	pozitivní	25	5	
Anti-B. pertussis Toxin IgA	negativní	2	381	
		27	386	413
	senitivitát	92.6	%	
	specificita	98.7	%	
	diagnostická efektivita	98.3	%	

REFERENCE

- Bamberger, E.S. and Srugo, I., What is new in pertussis? *Eur. J. Pediatr.* 2008. 167: 133-139.
- Guiso, N., Bordetella pertussis and pertussis vaccines. *Clin. Infect. Dis.* 2009. 49: 1565-1569.
- Guiso, N., Berbers, G., Fry, N.K., He, Q., Riffelmann, M., and Wirsing von König, C.H., What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis: recommendations from EU reference laboratories. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2011. 30: 307-312.
- Mattoo, S. and Cherry, J.D., Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to Bordetella pertussis and other Bordetella subspecies. *Clin. Microbiol. Rev.* 2005. 18: 326-382.
- Tozzi, A.E., Celentano, L.P., Ciofi degli Atti, M.L., and Salmaso, S., Diagnosis and management of pertussis. *CMAJ.* 2005. 172: 509-515.

