

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 254 Anti-Sp100

KRÁTKÝ POPIS

Anti-Sp100 je testovací systém dle ELISA pro kvantitativní měření IgG tříd protilátek proti nuclear body protein Sp100 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® (Sensoric 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.

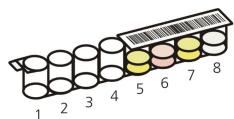
Během manipulace se všemi činidly, kontrolami vzorky séra sledujte stávající nařízení pro laboratorní bezpečnost a správnou laboratorní práci:

- 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 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 254
▽ 12 ORG 254-12

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 Sp100

Kód produktu na čárový kód: **Sp100**

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 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.

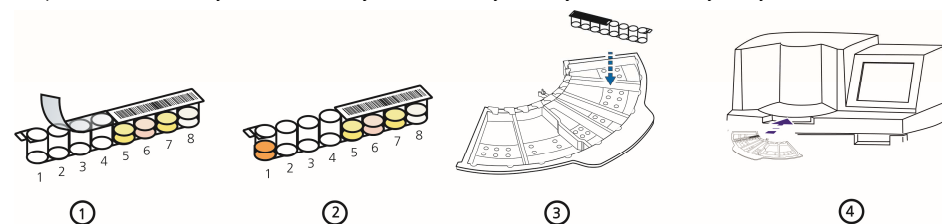
(1) Sejmout fólii, která pokrývá prázdné jamky 1 až 4 z potřebného testovacího proužku

Fólie otištěná čárkovým kódem, jenž pokrývá kavity 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

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 linearitu. Aktivita pro každý roztok byla

spočítána pomocí SMC® technologie.

Vzorek	Ředění	Pozorovaná	Očekávaná	P/O
		[U/ml]	[U/ml]	[%]
1	1:100	78.0	78.0	100
	1:200	42.3	39.0	108
	1:400	20.1	19.5	103
2	1:800	11.1	9.8	114
	1:100	89.3	89.3	100
	1:200	45.9	44.7	103
3	1:400	24.5	22.5	109
	1:800	12.2	11.2	111
	1:100	42.4	42.4	100
.	1:200	22.3	21.2	105
	1:400	9.5	10.6	90
	1:800	5.3	5.3	100

Limit detekce

Funkční citlivost 0.5 U/ml

Reprodukovatelnost

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

Intra-Assay		
Vzorek	Průměr U/ml	% CV
1	9.2	4.0
2	15.3	8.6
3	31.1	5.3

Inter-Assay		
Vzorek	Průměr U/ml	% CV
1	9.3	7.3
2	15.6	8.3
3	34.5	5.8

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	%
Primary biliary cirrhosis (PBC)		128	33	25.8
disease control sera: SLE		48	0	0.0
disease control sera: RA		149	2	1.3
normal human sera		450	1	0.2
Klinická diagnóza				
		pozitivní	negativní	
ORG 254	pozitivní	33	3	
Anti-Sp100	negativní	95	644	
		128	647	775
senitivita	25.8	%		
specificita	99.5	%		
diagnostická efektivita	87.4	%		

HRANICE METODY

Toto vyšetření je diagnostická pomůcka. Definitivní klinická diagnóza by neměla být založena na výsledcích jediného testu, ale měly by být lékařem pro všechny 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 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. Daehnrich, 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. Mitry, 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.
- 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 (ASMAs) 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.

