

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



ORG 911G Anti-Borrelia IgG

URČENÝM ÚČELEM

Alegria® Anti-Borrelia IgG je testovací systém dle ELISA pro kvantitativní měření IgG tříd protilátek proti Borrelia burgdorferi sensu lato 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

 Pro jednorázové použití

 Datum výroby

 Označení CE podle směrnice 98/79/ES

 ALEGRIA TEST STRIPS

Alegria® Testovací stripy

 WASH

Promývací pufr

 SYSTEM FLUID

Systémová kapalina

 RTU

Připraven k použití

SHRNUTÍ A VÝKLAD TESTU

Borrelia burgdorferi sensu lato (s. l.) představuje hlavní kauzativní organismus Lymeské boreliózy v Asii, Evropě a USA. Kmeny vyskytující se v Evropě jsou Borrelia burgdorferi sensu lato, které sdružují patogenní druhy B. afzelii, B. garinii, B. burgdorferi sensu stricto, B. spielmanii a B. bavariensis.

Potenciálně patogenními druhy jsou B. valaisiana, B. lusitanae a, pouze v USA, druh B. burgdorferi sensu stricto.

Přenos na člověka je způsoben klíštětem rodu Ixodes. Prvním příznakem u přibližně 60 % případů je erythema migrans, objevující se několik dní až týdnů po infekci. Eventuálně bývá erytém doprovázen středně závažnými chřipkovými příznaky. Po rozšíření patogenu krevní cestou nebo lymfatickým systémem mohou následovat některé komplikace v pozdějších stádiích onemocnění. Zejména se jedná o neuroboreliózu (cca 20 %) a Lymfskou artritidu (cca 10 %).

U neléčených pacientů může mít onemocnění závažný průběh a vést k trvalé chronické infekci. Na druhou stranu může infekce způsobená B. burgdorferi probíhat bez jakýchkoliv klinických příznaků.

Diagnostika Lymeské boreliózy spočívá v důkladném zhodnocení lékařské anamnézy.

Stanovení protilátek hraje rovněž rozhodující roli. V mnoha případech nelze protilátky stanovit v časném stádiu onemocnění (erythema migrans). Stanovení specifických protilátek proti boreliím je nezbytné pro potvrzení klinického podezření na Lymfskou boreliózu.

Stanovení intratekální produkce protilátek představuje konečný průkaz při stanovení neuroboreliózy.

U Lymeské artritidy bývají zjištěny mimořádně vysoké titry protilátek IgG s úplnou absencí protilátek IgM. Progresi Lymeské boreliózy lze zabránit podáváním antibiotik.

PRINCIP TESTU

Reakční jamky: potažené rekombinantní antigen (VlsE, DbpA, OspC, p83/p100) of *B. burgdorferi* s.s., *B. afzelii*, *B. garinii*.

Test Alegria® obsahuje mikrostripy s názvem Alegria® Test Strips. Mají 8 jamek a jsou označeny čárovým kódem. Každý proužek je určen pro jedno stanovení z jednoho vzorku od pacienta. Alegria® Test Strip obsahuje kompletní sadu reagensů: 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.

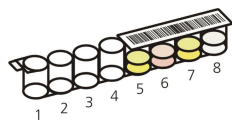
Během manipulace se všemi činidly, kontrolami vzorky séra sledujte stávající nařízení pro laboratorní bezpečnost a správnou laboratorní práci:

- 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 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, nepijte, nekuřte nebo nenanášejte make up v oblastech, kde se manipuluje se vzorky nebo sadou činidel. Při vylití absorbujte inertním materiálem a políť 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 911G

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 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.

Kód na čárový: **Borrel IgG** na výtisku: **Borr-G**

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

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

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

1 Certifikát kontroly kvality

WASH

SYSTEM FLUID



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 odebrat 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.
- Vyhnout 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

Vyjmete 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.

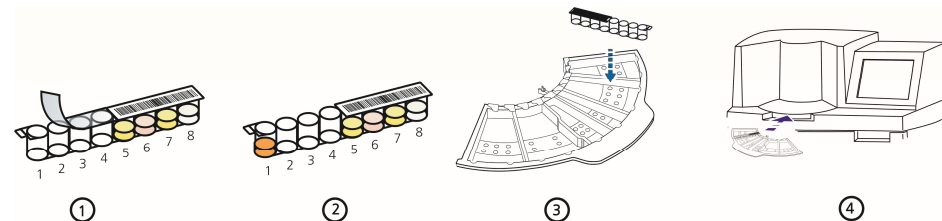
(1) Sejmout fólii, která pokrývá prázdné jamky 1 až 4 z potřebného testovacího proužku

Fólie otištěná čárovým kódem, jenž pokrývá kavitu 5 až 8, není k sejmutí.

(2) Na dno kavitu 1 napipetovat jamky 10 µl nezředěného vzorku pacienta.

(3) Vložte proužek do SysTray.

(4) Umístíte 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

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 - 200 U/ml

Hranice hodnoty

Cut-off tohoto testu Alegria® je: 25 U/ml

Interpretace výsledků

negativní	< 20 U/ml
hraniční	20 - 25 U/ml
pozitivní	> 25 U/ml

HRANICE METODY

Toto vyšetření je diagnostická pomůcka. Definitivní klinická diagnóza by neměla být založena na výsledcích jediného testu, ale měly by být lékařem po všech klinických a laboratorních nálezech 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 u vzorků pacientů.

Negativní výsledek nevylučuje infekci, protože sérum může být odebrán příliš brzy na stanovení protilátek být zjištělný. 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	Očekávaná	P/O
		U/ml	U/ml	[%]
1	1:100	159.8	159.8	100
.	1:200	80.9	79.9	101
.	1:400	38.6	40.0	97
.	1:800	19.7	20.0	99
2	1:100	115.9	115.9	100
.	1:200	56.9	58.0	98
.	1:400	26.5	29.0	92
.	1:800	13.8	14.5	95
3	1:100	98.7	98.7	100
.	1:200	54.0	49.4	109
.	1:400	25.8	24.7	105
.	1:800	13.5	12.3	110

Limit detekce

Minimální množství zjištěných protilátek je 4.5 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	6.1	5.4
2	24.2	6.3
3	155.0	5.4

Inter-Assay		
Vzorek	Průměr [U/ml]	% CV
1	8.8	5.7
2	25.8	6.4
3	150.7	5.4

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). 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).

Žádné rušení je bylo pozorováno u virových infekcí bakteriální nebo *T. pallidum*, *Chlamydia* sp., *Yersinia* sp., Parvovirus B19 nebo akutní infekce EBV. Ani rušivých účinků u revmatických onemocnění Místo fazolky spojené se zvýšenými titry autoprotilátek jako jsou revmatoidní faktory podle zlata antinukleárních protilátek.

Séroprevalence

Analýza 100 dárců zdravé krve z Německa ukázala 9 pozitivních výsledků rovných 9% séroprevalenci.

Výsledky studie

Srovnávací studie

Bylo testováno 194 vzorků metodou srovnávání. Populace studie obsahovala vzorky ze dvou klinických laboratoří.

V rámci referenční metody bylo zjištěno 56 pozitivních vzorků.

Na základě referenční metody byl u 51 z 56 vzorků stanoven rovněž pozitivní výsledek ve zkoušce Alegria® Anti-Borrelia IgG, poskytnutá citlivost byla tedy 91,1 %.

V rámci referenční metody bylo zjištěno 138 negativních vzorků.

Na základě referenční metody byl u 133 z 138 vzorků stanoven negativní výsledek ve zkoušce Alegria® Anti-Borrelia IgG, poskytnutá citlivost byla tedy 96,4 %.

184 ze 194 vzorků prokázalo odpovídající výsledky, což v závěru činí 94,8% shodu.

Dále bylo analyzováno 10 vzorků od pacientů s klinicky stanovenou boréliovou infekcí. Tyto vzorky byly analyzovány ve zkoušce Anti-Borrelia IgG správně (9 vzorků pozitivních a 1 vzorek hraniční).

		Porovnávací metoda		
		pozitivní	negativní	
ORG 911G	pozitivní	51	5 *	
Anti-Borrelia IgG	negativní	5 °	133	
		56	138	194
senitivitát		91.1	%	
specifická		96.4	%	
diagnostická efektivita		94.8	%	

* 2 vzorky byly pozitivní při použití metody Western Blot

° všech 5 vzorků bylo negativních při použití metody Western Blot

Klinická studie

84 klinických vzorků bylo analyzováno pomocí zkoušky Alegria.

Stádium 1: 21 sérových vzorků od pacientů s klinickým podezřením na stádium 1 Lymfské boreliózy po kousnutí klíštětem (11 případů s erythema migrans)

Stádium 2: 20 sérových vzorků od pacientů s neuroboreliózou (akutní a dřívější)

Stádium 3: 43 sérových vzorků od pacientů s artritidou

Samples		Anti-Borrelia IgM				Anti-Borrelia IgG				IgM + IgG		
Disease	Clinics	number	positive	% positive	borderline	% borderline	positive	% positive	borderline	% borderline	reactive*	% reactive
Stage 1	Borreliosis after tick-bite	21	15	71.4%	2	9.5%	10	47.6%	3	14.3%	18	85.7%
Stage 2	Neuroborreliosis	20	6	30.0%	3	15.0%	14	70.0%	1	5.0%	15**	75.0%
Stage 3	Arthritis	43	9	20.9%	1	2.3%	39	90.7%	4	9.3%	43	100.0%

* reaktivní: hraniční nebo pozitivní

** 5 vzorků bylo negativních se sérologickými zkouškami, které prokázaly pozitivní reakci mozkomíšního moku (CSF)

REFERENCE

1. Ang CW, Notermans DW, Hommes M, Simoons-Smit AM, Herremans T. Large differences between test strategies for the detection of anti-Borrelia antibodies are revealed by comparing eight ELISAs and five immunoblots. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 30(8):1027-32.
2. Bratton RL, Whiteside JW, Hovan MJ, Engle RL, Edwards FD. Diagnosis and treatment of Lyme disease. *Mayo Clin Proc* 2008; 83(5):566-71.
3. Nau R, Christen HJ, Eiffert H. Lyme disease--current state of knowledge. *Dtsch Arztebl Int* 2009; 106(5):72-81.
4. Rizzoli A, Hauffe H, Carpi G, Vourc HG, Neteler M, Rosa R. Lyme borreliosis in Europe. *Euro Surveill* 2011; 16(27):pii=19906.
5. Schulte-Spechtel U, Fingerle V, Goettner G, Rogge S, Wilske B. Molecular analysis of decorin-binding protein A (DbpA) reveals five major groups among European *Borrelia burgdorferi sensu lato* strains with impact for the development of serological assays and indicates lateral gene transfer of the dbpA gene. *Int J Med Microbiol* 2006; 296 Suppl 40:250-66.
6. Wilske B, Fingerle V, Schulte-Spechtel U. Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2007; 49(1):13-21.
7. Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klempner MS et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2006; 43(9):1089-134.

