

## 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

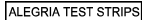



## ORG 234S Anti-Gliadin Screen

### KRÁTKÝ POPIS

Anti-Gliadin Screen je testovací systém dle ELISA pro kvantitativní měření IgG, IgA tříd protilátek proti gliadinu 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® (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:

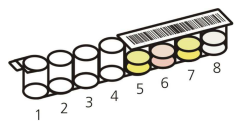
- První pomoc: V případě kontaktu s pokožkou ihned důkladně opláchněte vodou a saponátem. Sundejte kontaminovaný oděv a boty a před dalším použitím je omyjte. Dojde-li ke kontaktu systémové kapaliny s kůží, opláchněte důkladně vodou. Po kontaktu se zrakem důkladně opláchněte otevřené oči tekoucí vodou 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 nenanášejte make up v oblastech, kde se manipuluje se vzorky nebo sadou činidel. Při vylití absorbujte inertním materiálem a polítlý 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 234S-24

▽ 12 ORG 234S-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, 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 čistěným antigenem gliadin from wheat

Kód produktu na čárový kód: **Gliadin Screen**

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 odebírat podle platných směrnic a metod.
- Krev nechat sražit a sérum získat odstředěním.
- Používání hemolytických, 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 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.

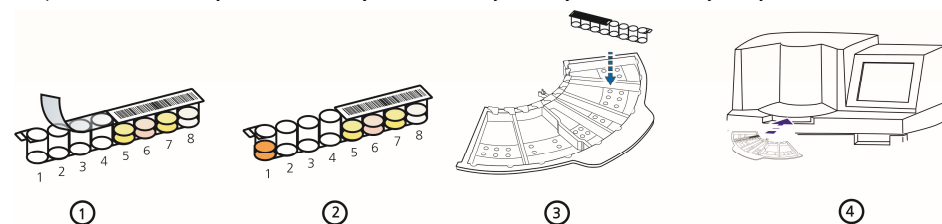
(1) Sejmout fólii, která pokrývá prázdné jamky 1 až 4 z potřebného testovacího proužku

**Fólie otištěná 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 tisknout výsledky.



## KALIBRACE

Tento analyzační systém je zkaliibrován 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 15 U/ml

### Interpretace výsledků

negativní < 15 U/ml  
pozitivní ≥ 15 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 linearity. Aktivita pro každý roztok byla spočítána pomocí SMC® technologie.

Vzorek	Ředění	Pozorovaná	Očekávaná	P/O
		[U/ml]	[U/ml]	[%]
1	1:100	98.6	98.6	100
.	1:200	49.6	49.3	101
.	1:400	24.5	24.7	99
.	1:800	12.0	12.3	97
2	1:100	75.6	75.6	100
.	1:200	38.1	37.8	101
.	1:400	18.6	18.9	98
.	1:800	9.4	9.5	99
3	1:100	69.8	69.8	100
.	1:200	34.6	34.9	99
.	1:400	17.7	17.5	101
.	1:800	8.9	8.7	102

## 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	22.6	2.7
2	43.5	5.5
3	84.1	5.4

Inter-Assay		
Vzorek	Průměr U/ml	% CV
1	22.1	4.9
2	42.9	4.0
3	87.4	8.1

## 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	%
Coeliac disease	100	97	97.0
Normal human sera	150	2	1.3

		Klinická diagnóza		250
		pozitivní	negativní	
ORG 234S	pozitivní	97	2	
Anti-Gliadin Screen	negativní	3	148	
		100	150	
senitivita	97.0	%		
specifita	98.7	%		
diagnostická efektivita	98.0	%		

## HRANICE METODY

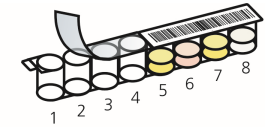
Toto vyšetření je diagnostická pomůcka. Definitivní klinická diagnóza by neměla být založena na výsledcích jediného testu, ale měly by být lékař po všech klinických a laboratorních náleží byly hodnoceny o celé klinický obrazem pacienta. Také každé rozhodnutí pro terapii by měla být přijata individuálně.

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.

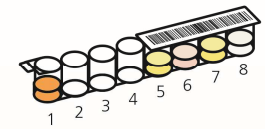
## REFERENCE

- Alessio M, Tonutti E, Brusca I, Radice A, Licini L, Sonzogni A, Florena A, Schiaffino E, Marus W, Sulfaro S, Villalta D: Correlation between IgA tissue transglutaminase antibody ratio and histological finding in celiac disease: A multicentre study. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2011.
- Cummins AG, Roberts-Thomson IC: Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. J Gastroenterol. Hepatol. 2009, 24:1347-1351.
- Giersiepen K, Leigemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR: Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:229-241.
- Green PH, Cellier C: Celiac disease. N. Engl. J Med. 2007, 357:1731-1743.
- Gupta R, Reddy DN, Makharia GK, Sood A, Ramakrishna BS, Yachha SK, Thapa BR, Banerjee R, Anuradha S, Dutta U, Puri AS, Jain AK, Mulder CJ, Kumar A, Boindala S: Indian task force for celiac disease: current status. World J Gastroenterol. 2009, 15:6028-6033.
- Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Leigeman M, Maki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP: European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012, 54:136-160.
- Mahadov S, Green PH: Celiac disease: a challenge for all physicians. Gastroenterol. Hepatol.(N Y) 2011, 7:554-556.
- Marietta EV, Rashtak S, Murray JA: Correlation analysis of celiac sprue tissue transglutaminase and deamidated gliadin IgG/IgA. World J Gastroenterol. 2009, 15:845-848.
- Murray JA: Serodiagnosis of celiac disease. Clin. Lab. Med. 1997, 17:445-464.
- Rubio-Tapia A, Murray JA: Celiac disease. Curr. Opin. Gastroenterol. 2010, 26:116-122.
- Telega G, Bennet TR, Werlin S: Emerging new clinical patterns in the presentation of celiac disease. Arch. Pediatr. Adolesc. Med 2008, 162:164-168.
- Tjon JM, van BJ, Koning F: Celiac disease: how complicated can it get? Immunogenetics 2010, 62:641-651.
- van der Windt DA, Jellema P, Mulder CJ, Kneepkens CM, van der Horst HE: Diagnostic testing for celiac disease among patients with abdominal symptoms: a systematic review. JAMA 2010, 303:1738-1746.
- Villalta D, Tonutti E, Prause C, Koletzko S, Uhlig HH, Vermeersch P, Bossuyt X, Stern M, Laass MW, Ellis JH, Ciclitira PJ, Richter T, Daehnrich C, Schlumberger W, Mothes T: IgG antibodies against deamidated gliadin peptides for diagnosis of celiac disease in patients with IgA deficiency. Clin. Chem. 2010, 56:464-468.

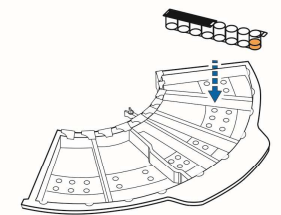
1



2



3



4

