

HITACHI

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

NEMZETKÖZI CSOMAGBETÉT A CLA[®] ALLERGÉN-SPECIFIKUS IgE TESZTHEZ



In vitro diagnosztika, egyszerű felhasználásra

Doc.No. 0625-HUN
Rev: 07

4 Reagensok/Komponensek

CLA[®] Allergén-Specifikus IgE Teszt*
2-8°C-on tartandó, a lejárati időig. Ne fagyasszuk!

A komponensek leírása

Teszt Kamrák

Cellulóz szálahoz kovalensen kötött, specifikus allergének vagy allergén keverékek

Egy 20-tesztos kitben:

20 teszt kamra

Mosó Puffer Koncentrátum

Higitás után az oldat 0,01 M foszfáttal pufferolt só-oldatot (PBS), 0,1% Tween 20-t, és 0,001% Na-azid tartósítószeret tartalmaz

Két palack, 50 - 50 ml

Ellenanyag (IgE Antibody) reagens

Az oldat összetétele:

Kékszinű oldat, amelyben enzimmel jelölt kecske anti-humán IgE, 0,01 M foszfáttal pufferolt só (pH 7.2), fehérje-stabilizálókat, és 0.1% Proclin[®] tartósítószeret tartalmaz.

Egy palack, 32 mL

Fotoreagens A

Az oldat összetétele:

14-30 mM 3-aminophthalhydrazide (luminol)

Egy palack, 8 mL

Fotoreagens B

Az oldat összetétele:

0.05 M borát puffer, pH 9,4

Egy palack, 8mL

Fotoreagens C

Piros oldat, összetétele:

0.0025 Methyl narancs

Egy palack, 8 mL

Fotoreagens D

Az oldat összetétele:

0.004 M hidrogénperoxid

Egy palack, 8 mL

Teszt-kamra Gumidugók (fekete)

A Teszt Kamrák tetejére

22 dugó

Teszt-kamra Gumidugók (fehér)

A Teszt Kamrák aljára

22 dugó

* Különböző kiserelésben kapható. Részletes információért lépjen kapcsolatba a Hitachi Chemical Diagnostics helyi képviselőjével.

5 Figyelmeztetések

- A CLA Allergén-Specifikus IgE Teszt *in vitro* diagnosztikum.
- A Mosó Puffer Koncentrátum Na-azidot tartalmaz tartósítóként. A Nátrium-azid reakcióba léphet az ólom- vagy réz csövekkel, potenciálisan robbanékony fém-azidokat képezve. Ezért tanulsunk óvatosságot ennek a reagensnek a kiöntésekor - mindig öblítsük le elegendő vízzel, hogy megelőzzük a fém-azidok felhalmozódását a lefolyó rendszerben.⁸
- Ne használjuk a készlet komponenseit a lejárati dátumán túl! A lejárati idő minden komponensre rá van nyomtatva.
- A CLA Allergén-Specifikus IgE Teszt reagensi készletet képeznek. A különböző gyártási számú kitek reagensit ne keverjük!
- Hypo szennyezés zavarja a tesztet.

6 Reagens készítés

Mosó Puffer:

- Hagyjuk, hogy a Mosó Puffer Koncentrátum szobahőmérsékletre melegedjen. Ellenőrizzük, hogy minden sókristály feloldódott-e. Ha a kristályokat látnánk, helyezük a szorosan lezárt Mosó Puffer Koncentrátumot egy pohár meleg vízbe, amíg minden kristály fel nem feloldódik.
- Öblítsük át desztillált vízzel a Mosó Puffer Diszpenzert és a csöveket.
- Az üveg óvatos fel-le fordításával keverjük össze a Mosó-puffer Koncentrátumot.
- Adjuk a Mosó Puffer Koncentrátumot (50 mL) 950 mL desztillált, vagy ionmentes vízhez egy tiszta, 1 L mérőhengerben vagy palackban. Alaposan keverjük össze.
- Öntsük az oldatot a Mosó Puffer Diszpenzerbe.
- A Mosó Puffer az elkészítéstől számított egy hónapig használható szobahőmérsékleten (20-25°C) vagy hűtőszekrényben (2-8°C) tárolva.

1 Rendeltetészerű felhasználás

A CLA[®] Allergén-Specifikus IgE Teszt *in vitro* módszer a humán szérumban keringő, allergén-specifikus IgE koncentrációjának szemikvantitatív meghatározására.

2 A teszt összefoglalása és magyarázata

Az atopiás allergia olyan immunológiai hiperszenzitív állapot, amelyet a szérumban ellenanyagok speciális osztálya, az ún. reaginok okoznak. A reagint a hatvanas évek közepén immunoglobulin E (IgE)^{1, 2}-ként azonosították. Specifikus allergénnel stimulálva az immunkompetens limfociták IgE ellenanyagot termelnek az allergénnel szemben. Az IgE ellenanyag Fc részén keresztül a hisztociták és a bazofil leukociták felszínén levő receptorokhoz kötődik.³ Ha ezután allergén kötődik a sejtfelszíni specifikus IgE-hez, az a sejt degranulációját és vazóaktív aminok felszabadítását váltja ki, ami simaizom összehúzóást, viszketést, duzzadást és az extracelluláris folyadékok nyálkahártyán keresztüli szivárgását okozza. Ennek a biológiai folyamatnak leggyakoribb klinikai manifesztációi a szénanátha, asztma, dermatitis, csalánkiütés és az anafilaxiás sokk. A beteg különböző allergének elleni IgE szintjének meghatározása fontos szerepet játszik az atopiás allergia diagnosztizálásában és kezelésében.^{4, 5}

A CLA Allergén-Specifikus IgE Teszt az eredeti RAST teszt nem-izotópos módosításán alapul, és lehetővé teszi a beteg számos, specifikus allergénnel szembeni IgE-szintjének egyidejű meghatározását.⁶ A szemi-quantitatív eredményeket a RAST-tesztelésben használható hasonló osztályok rendszerében adjuk meg. Minden CLA allergén panel tartalmaz belső kontrolokat, amelyek ellenőrzik a teszt működését és kompenzálják a beteg szérumban előforduló nem-specifikus kötést. A CLA Allergén-Specifikus IgE Teszt egyesítette a RAST módszerek specifitását és érzékenységét a többféle allergén nem-izotópos, szimultán tesztelésének egyszerű és kényelmes mivoltával.⁷

3 Az eljárás elve

A CLA Allergén-Specifikus IgE Teszt egy kis műanyag eszközben, az u.n. Teszt Kamrában hozza össze a beteg szérumát a különböző allergénnel vagy allergén keverékekkel. A Teszt Kamra egymástól elkülönített cellulóz szálahoz tartalmaz, amelyek mindegyikéhez egy-egy allergén vagy allergén keverék van kovalensen kötve. Minden kamrában van egy Negatív Blank Kontrol és egy Pozitív Kontrol is.

A teszt elvégzésekor a Teszt Kamra a beteg szérumával van megtöltve. Az inkubálás alatt a szérumban levő IgE az allergénnel fedett cellulóz szálahoz kötődik. Ezután a meg nem kötődött szérumban levő pufferes mosás távolítja el a Teszt Kamrából. Majd enzimmel jelölt anti-IgE kerül a Kamrába, és a szálahoz kötött IgE-hez kapcsolódik. Egy második mosás után a Teszt Kamrát fotoreagens keverékkel töltjük meg, amely reagál a jelölt ellenanyaggal, kemilumineszcenciát eredményezve. Az egyes szálahoz által kibocsátott fény mennyisége egyenesen arányos a beteg szérumában levő allergén-specifikus IgE mennyiségével.

Ellenanyag Reagens:

- Használat előtt hagyjuk, hogy az Ellenanyag Reagens szobahőmérsékletre melegedjen.
- Használat előtt óvatosan fordítsuk fel-le az Ellenanyag Reagens palackját.
- Az Ellenanyag Reagens a felhasználások között hűtőszekrényben (2-8°C) tartva a lejárati dátumig használható.

MEGJEGYZÉS: Egy palack Ellenanyag Reagens hús (20), 36-allergénes Teszt-kamrára elegendő.

Fotoreagens keverék:

A Fotoreagenst közvetlenül felhasználás előtt készítsük el!

- Melegítsük a Fotoreagens A, B, C és D-t szobahőmérsékletre.
- Egyszer használatos pipettahegyeket használva mérjük össze **azonos térfogat** Fotoreagens A-t, B-t, C-t és D-t. Teszt Kamráként **minden egyes** reagensből minimum **350 µl** szükséges, azaz **1.4 mL** Fotoreagens keverék Teszt Kamráként.

MEGJEGYZÉS: A reagensok szennyeződését megelőzendő, mindegyik reagenshez használjunk új pipetta hegyet

- Óvatosan keverjük össze az edény tartalmát.

MEGJEGYZÉS: A Fotoreagens Keveréket az összekeveréstől számított 60 percen belül fel kell használni.

7 Tárolási utasítás

- A kit komponenseit 2-8°C-on kell tárolni. Az utasítás szerint tárolt komponensek a címkékre nyomtatott lejárati időpontig használhatók.
- Ne fagyasszuk a kit komponenseit.
- A Teszt Kamrák műanyag zacskóban vannak, nedves szivacs mellett. Ellenőrizzük, hogy a zacskó a használat előtt és után tökéletesen le van-e zárva. Ha a szivacs kiszáradna, nedvesítsük meg Mosó Pufferral, majd zárjuk le a zacskót. Lezárt csomagban 2-8°C-on tárolva a Teszt Kamrák a rájuk nyomtatott lejárati dátumig használhatók fel.
- Ne használjunk a kit komponenseit, ha a megromlásra utaló jeleket mutatnak. A megromlás jelei közé tartozik pl. a szokatlan szag, zavarosság, vagy más, szennyeződésre utaló jel.

8 Mintagyűjtés és előkészítés

A betegetől származó minden mintát és használt kit-komponenst úgy kezeljük, ahogy az a potenciálisan fertőző humán szérumszám- és vérmintákra elő van írva. A betegetől származó minták kezelésénél kövessük az Általános Elővigyázatossági szabályokat ("Universal Precautions") vagy más, az intézménynél bevezetett irányelveket.⁹⁻¹¹

A minimum humán szérumszám (egy Teszt-kamrára) a következő:

- Egy 36-allergénes Teszt-kamra: 1,4 mL szérumszám;
- Egy 16-vagy-kevesebb-allergénes Teszt-kamra: 0,8 mL szérumszám.

A CLA allergia teszteléshez használandó szérumszám vételénél, előkészítésénél és tárolásánál az alábbiak szerint kell eljárni

1. Vegyünk vért vénából egy 10 mL szérumszám-szeparátor csőbe, vagy piros tetejű csőbe. A betegnek nem szükséges éheznie. Nincs szükség semmiféle különleges eljárásra.

Megjegyzés: Hemolizált vagy lipémiás szérumszám hátrányosan befolyásolhatja a CLA Allergén-Specifik IgE Teszt működését.

2. Hagyjuk a vért a csőben 1 óráig szobahőmérsékleten alvadni
3. Centrifugáljuk az alvadt vért 10 - 20 percig 2000-3000 g-vel vagy 2500-3600 rpm-mel.
4. Helyezzük a szérumszámot megfelelően jelölt műanyag tároló csőbe.
5. A szérumszám mintákat 2-8°C -on maximum egy hétig lehet eltartani. Hosszabb időre tároljuk a mintákat fagyasztva, -20°C-on.

Megjegyzés: A szérumszám minták ismételt fagyasztása - olvasztása kerülendő. A fagyasztott mintákat felolvasztás után, a centrifugálás előtt alaposan keverjük fel!

9 A teszt kivitelezése

A teszt kivitelére vonatkozó részletes útmutatásért forduljon a "Használati Utasítás és Kivitelezési Kézikönyv"-höz.

A Kit-ben lévő anyagok

- CLA Allergén-Specifikus IgE Teszt (Isd 4. pont, REAGENSEK/KOMPONENSEK)

Szükséges, de a Kit-ben nem lévő anyagok

- CLA Eszköz Készlet, tartalma:
 - Munkaállomás állvány, maximum 40 Teszt Kamrához
 - Munkaállomás gyűjtőedény
 - Mosópuffer Diszpenzer palack, 2 L
 - Mikropipetta és hegyek
 - Eldobható reagens csészék, 50 mL
 - 3 cc fecskendő
- Merőhenger vagy palack, 1 L-es, Mosó Puffer készítéséhez
- Ionmentes vagy desztillált víz
- 10 mL-es szérumszám szeparátor vagy piros tetejű csövek, minta vételhez
- Centrifuga 2000-3000 g-vel vagy 2500-3600 rpm fordulatszámmal
- Tiszta, műanyag tárolócsövek, minta preparálásához
- Nedvszívó papírtörülközők
- Tiszta, nem szálasodó törők
- CLA-1 Luminometer System

A Teszt Kamrák és a betegek mintáinak előkészítése

1. Közvetlenül használat előtt **újra centrifugáljuk le** a szérumszám mintákat, 10 -20 percig 2000-3000 g -vel illetve 2500-3600 rpm -el.

Megjegyzés: A centrifuga fékezése a csapadék elmozdulását okozhatja és magas háttér értékekhez, téves eredményekhez vezethet. Kapcsoljuk ki a centrifuga fékjét a szérumszám minták fugálása előtt.

2. Vegyük elő a Teszt Kamrákat (mintánként egyet). Zárjuk vissza a csomagot és helyezzük a nem használt Teszt Kamrákat a hűtőbe.
3. Töröljük le a nedvességet a Teszt Kamrák külsejéről.
4. Úgy, hogy a színes hálózat lefelé nézzen, jelöljük meg az egyes Teszt Kamrákat a megfelelő beteg-azonosítóval.
5. Irjuk fel a kit és a panel gyártási számát, és a betegek azonosítóját.
6. Óvatosan ütögessük a Teszt Kamrák csucsát egy nedvszívó papírtörülközőhöz, hogy a Teszt Kamra belsejéből minden folyadék- maradványt eltávolítsunk.

Standard Eljárás

A. Töltsük fel a Teszt Kamrákat Szérumszám:

1. Illesszük a 3cc fecskendőt a Teszt Kamra tetejére.
2. A Teszt Kamra alját helyezzük a szérumszámot tartalmazó csőbe. **Ke-rüljük el az esetleges csapadékot és/vagy lipid réteget.**
3. Lassan húzzuk fel a fecskendő dugattyúját és szívunk fel annyi szérumszámot a Teszt Kamrába, hogy a felső fonalat takarja. **Ellenőriz-zük, hogy a szérumszám teljesen takarja a felső fonalat. Ez korlá-tozni fogja a buborék képződést, ami zavarhatná a teszt ered-ményeit.**

B. Dugaszoljuk be és inkubáljuk a Teszt Kamrákat:

1. A fecskendőt a Teszt Kamra tetején hagyva illesztünk egy fehér dugast a Teszt Kamra aljába.
2. Távolítsuk el a fecskendőt és illesztünk egy fekete dugót a Teszt-kamra tetejébe.

Megjegyzés: A dugókat teljesen be kell nyomni hogy a kamra ne szívá-rogjon.

3. A szérumszámot töltött Teszt Kamrákat állítsuk a munkaállomás áll-ványába.
4. Inkubáljuk őket szobahőmérsékleten **16 - 24 órán át**, feljegyezve az inkubálás kezdetének időpontját.

C. Készítsük el a Mosó Puffert, a 6. pont "Reagens Készítése" utasításai szerint.

D. Távolítsuk el a szérumszámot:

1. Vegyük ki az alsó dugót a Teszt Kamrákból és tegyük vissza a kamrákat a munkaállomás állványába.
2. Vegyük ki a felső dugót a Teszt Kamrákból, a szérumszámot a gyűjtőedénybe folytatva. Irjuk fel az inkubálás végének idejét.

E. Mossuk meg a Teszt Kamrákat:

1. Telítsük a Mosópuffer Diszpenzert, amíg a buborékok eltávoznak.
2. Illesszük a diszpenzer nyitott csövét az első Teszt Kamra tetejére.
3. Mossunk meg minden Teszt Kamrát egyszer 10 mL Mosó Pufferral, a diszpenzer pumpáját egyszer, mérsékelt erővel len-yomva.

Megjegyzés: Hagyjuk, hogy minden Teszt Kamra tökéletesen ki- ürüljön mielőtt továbbmennénk a következő lépésre.

4. Ismételjük meg a 3. lépést még kétszer (összesen három mosás).

Megjegyzés: A Teszt Kamrákat mosás után azonnal fel kell tölteni Ellenanyag Reagenssel, hogy a fonalak ki ne száradjanak.

F. Töltsük fel a Teszt Kamrákat Ellenanyag Reagenssel:

1. Óvatosan ütögessük a Teszt Kamrák alsó nyílását egy nedvszivó papírtörülközőhöz, hogy a Mosó Puffer maradékát eltávolítsuk.
2. Illesszük a 3 cc fecskendőt a Teszt Kamra tetejére.
3. Helyezzük a Teszt-kamra alját az Ellenanyag Reagensbe. Az Ellenanyag Reagenst tartjuk egy eldobható reagens csészében.
4. Lassan húzzuk fel a fecskendő dugattyúját és szívjuk fel az Ellenanyag Reagenst a Teszt Kamrába, hogy a legfelső szálát fedje.

NOTE: Ellenőrizzük, hogy az Ellenanyag Reagens teljesen fedi a legfelső szálát, ez korlátozni fogja a teszt eredményét zavaró buborékok képződését.

G. Dugaszoljuk be és Inkubáljuk a Teszt Kamrákat:

1. Miközben a fecskendő még a Teszt Kamra tetején van, tegyük az alsó, fehér dugót a Teszt Kamrába.
2. Távolítsuk el a fecskendőt és illesszük be a felső, fekete dugót.
3. Állítsuk a reagenssel töltött Teszt-kamrákat a munkaállomás állványába. Inkubáljunk **4 óra±15 percen** keresztül szoba-hőmérsékleten, feljegyezve az inkubálás kezdetét.

H. Távolítsuk el az Ellenanyag Reagenst:

1. Vegyük ki az alsó dugót a Teszt-kamrákból és tegyük vissza a kamrákat a munkaállomás állványába.
2. Vegyük ki a felső dugót a Teszt Kamrákból, folyassuk az oldatot a gyűjtőedényébe. Jegyezzük fel az inkubálás végét.

I. Mossuk meg három (3) -szor a Teszt Kamrákat, az E1- E4. lépésekben leírtak szerint

J. Készítsünk Fotoreagens keveréket a 6. pont, "REAGENSEK KÉSZÍTÉSE" utasításai szerint.

Megjegyzés: A Teszt-kamrákat az utolsó mosás után azonnal fel kell tölteni Fotoreagens Keverékkel, hogy a fonalak ki ne száradjanak.

K. Töltsük fel a Teszt Kamrákat Fotoreagens keverékkel:

1. Óvatosan ütögessük a Teszt-kamrák alsó nyílását egy nedvszivó papírtörülközőhöz, hogy a Mosó Puffer maradékát eltávolítsuk.
2. Illesszük a fecskendőt a Teszt Kamra tetejére.
3. A Teszt Kamra alját helyezzük a Fotoreagens Keveréket tartalmazó eldobható csészébe.
4. Lassan húzzuk fel a fecskendő dugattyúját, Fotoreagens keveréket szívva a Teszt Kamrába, amíg a kamra színültig telik. Ez mérsékeli a légbuborékok képződését, ami zavarhatja az eredményeket.

L. Dugaszoljuk be a Teszt Kamrákat:

1. Miközben a fecskendő még a Teszt Kamra tetején van, tegyük az alsó, fehér dugót a Teszt Kamrába.
2. Távolítsuk el a fecskendőt és illesszük be a felső, fekete dugót.
3. Vizsgáljuk meg, hogy a Kamra nem szivárogo-e.
4. Töröljük le a Teszt Kamrák külsejéről a Fotoreagens keveréket egy tiszta, nedves, szál-mentes törlővel

M. Hagyjuk a Teszt Kamrákat 20 percig állni, mielőtt leolvassuk a Luminometert. A fotoreagens hozzáadásától számított 60 percen belül valamennyi Teszt Kamrát le kell olvasni.

N. Az eredmények leolvasásánál kövessük a "Használati Utasítás és Kivitelezési Kézikönyv"-et.

Alternatív (Egy Napos) Eljárás

Megjegyzés: Saját vizsgálataink szerint az egynapos eljárás érzékenysége szignifikánsan alacsonyabb. Minden laboratóriumnak magának kell meghatároznia, hogy az Alternatív Eljárás mennyire felel meg specifikus céljainak.¹²

Szükséges hozzá a CLA Rotátor Készlet, amelynek részei:

- Fő egység, elektromos vezetékekkel
- Teszt Kamra tartó
- Használati utasítás
- Statpet, 750 µL

A. Töltsük fel a Teszt Kamrákat szérummal:

1. Illesszük a Statpet-et (a Rotátor Kít-ből) a Teszt Kamra tetejére.
2. A Teszt Kamra alját heyezzük a beteg szérumát tartalmazó csöbe. **Kerüljük el a csapadékot és/vagy lipid réteget!**
3. Nyomjuk le és lassan engedjük fel a Statpet dugattyúját, szérumot szívva a Kamrába. A Kamrát csak félig töltsük meg.

Megjegyzés: A Statpet dugattyúja legyen lenyomva mielőtt a Teszt Kamra végét a szérumba tennénk. A szérum mintába injektált levegő felkeverheti a mintacső alján levő csapadékot.

B. Dugaszoljuk be a Teszt Kamrákat, helyezzük őket a Rotátorba, és forgassuk őket:

1. Miközben a Statpet még a Teszt Kamra tetején van, tegyük az alsó, fehér dugót a Teszt Kamra aljába.
2. Távolítsuk el a Statpet-et és illesszük be a felső, fekete dugót.

Megjegyzés: A dugókat teljesen be kell nyomni, hogy a Kamra ne szivároгjon.

3. Hogy a szérum valamennyi szálát befedje, döntjük meg a Kamrát 45° szögben, és gyöngéden kopogtassuk a bedugaszolt Teszt Kamra egyik végét, amíg a szérum átfolyik az alsó végébe. Majd fordítsuk meg, és ismételjük meg az kopogtatást, amíg a szérum a kamra másik végébe folyik.
4. Helyezzük a Teszt Kamrákat a CLA Rotátor tartójába.
5. Forgassuk a Teszt Kamrákat az alábbiak szerint:
 - a. Állítsuk a Rotátor óráját **3 órára** és kezdjük meg a forgatást. Jegyezzük fel a forgatás/inkubálás kezdetét és végét.
 - b. Figyeljük, hogy a szérum áramlik-e valamennyi kamrában amikor a Rotátor mozog.
 - c. Ha a szérum nem folyik simán a Teszt-kamra egyik végé-ből a másikba:
 - i. Állítsuk meg a Rotátort, vegyük ki a Teszt Kamrát és ütögessük az asztal lapjához.
 - ii. Helyezzük vissza a Teszt-kamrát a Rotátor tartójába.
 - iii. Folytassuk a forgatást, figyelve a szérum áramlását.
 - iv. Ismételjük szükség szerint.

C - G. A Standard Eljárás szerint.

H. Dugaszoljuk be és inkubáljuk a Teszt Kamrákat:

1. Miközben a fecskendő még a Teszt Kamra tetején van, tegyük az alsó, fehér dugót a Teszt Kamrába.
2. Távolítsuk el a fecskendőt és illesszük be a felső, fekete dugót.
3. Tegyük a reagenssel töltött Teszt Kamrákat az állványba. Inkubáljunk **3 óra±15 percen** keresztül, feljegyezve az inkubálás kezdetét.

Megjegyzés: Az Ellenanyag Reagenssel való inkubálás alatt ne forgassuk a Teszt Kamrákat!

I - N. A Standard Eljárás szerint végzendő.

10 "Minőségi ellenőrzés"

A. Belső Kontrol szálak

Minden Teszt Kamra tartalmaz egy Pozitív "Procedurális" Kontrolt, és egy "Negatív, Blank Kontrol"-t. Ezek a szálak, mint az egyes Teszt Kamrák belső indikátorai működnek.

Pozitív, Procedurális Kontrol: A Pozitív Procedurális Kontrol a kit-reagenseinek működését ellenőrzi. A Pozitív, Procedurális Kontrol 243 LUs vagy nagyobb értéket kell adjon a CLA-1 luminométeren.

Negatív, Blank Kontrol: A Negatív, Blank Kontrol az esetleges nem-specifikus IgE-kötést kompenzálja. A Negatív, Blank Kontrol 33 LUs vagy annál kisebb értéket kell adjon a CLA-1 luminométeren.

Nem Elfogadható Belső Kontrol Kimenetel: Ha valamelyik belső kontrol eredménye nem esik a fent megadott elfogadható tartományba, akkor a következőket kell tenni:

- Helyezzük vissza a Teszt-kamrát a Pette kazettába (ügyeljünk a pontos illeszkedésre), és újra olvassuk le.
- Ha az eredmény még mindig nem elfogadható, kövessük a "Használati Utasítás és Kivitelezési Kézikönyv" 6. és 7. szekcióit

B. IgE-Pozitív és -Negatív Kontrol Szérumok

A Hitachi Chemical Diagnostics azt javasolja, hogy minden új gyártási számú CLA Allergen-Specifikus IgE Teszt reagensit és Teszt Kamráit vizsgáljanak le két különböző kontrol szérummal: CLA IgE Pozitív Kontrol Szérummal és CLA IgE Negative Kontrol Szérummal. A használati utasítás és az elfogadható eredmények a "MAST CLA IgE-Pozitív és -Negatív Kontrol Szérumok" csomag betétjén találhatók. A Szabályozó Hatóságok a Pozitív és Negatív Kontrol Szérumok ennél gyakoribb használatát is megkövetelhetik. A specifikus részletekért forduljanak saját Szabályozó Hatóságaikhoz.

11 Eredmények

A CLA-1 Luminometer a Teszt Kamrákban lévő fonalak által kibocsátott fény mennyiségét méri. A luminométer a fénykibocsátást lumineszcencia egységekben (LUs) méri. A beteg IgE válaszához kiszámításához a műszer a specifikus IgE szálak emissziójából automatikusan levonja a Negatív, Blank Kontrol szál emisszióját. 0-tól 4-ig terjedő CLA Osztály értékeket határozzunk meg a Teszt Kamrában található egyes szálak fénykibocsátása

alapján. Ezekből az értékekből áll össze a CLA Allergén-Specifikus IgE Teszt CLA Osztály Allergia Pontrendszere. Az alábbi táblázat mutatja, hogy mennyi IgE felel meg az egyes CLA Osztályoknak és a műszeren leolvasott értékeknek.

CLA Osztály	Net LU	Allergén-Specifikus IgE Koncentráció
4	>242	Nagyon magas
3	143-242	Magas
2	66-142	Közepes
1	27-65	Alacsony
1/0	12-26	Nagyon alacsony
0	0-11	Nem kimutatható

Az 1/0 vagy annál magasabb osztály értékek progressziven növekvő allergén-specifikus ellenanyag koncentrációnak felelnek meg. A 0 CLA osztály az allergén-specifikus ellenanyag hiányát vagy nem kimutatható szintjét jelenti.

12 Az eljárás korlátai

- Hemolizált vagy lipémiás szérum károsan befolyásolhatja a CLA Allergén-specifikus IgE Teszt-et.
- Definitív klinikai diagnózist és/vagy immunterápiás dozirozási programot sosem szabad egyetlen diagnosztikus teszt eredményére alapozni, hanem ezeket az orvosnak az összes klinikai és laboratóriumi adat figyelembevételével kell megállapítania.
- A CLA Allergén-Specifikus IgE Teszt szemikvantitatív eredményt ad. A módszernek nincs abszolút standardja, az osztályok meghatározása önkényes.
- Mivel a specifikus IgE ellenanyag kötőképesség allergéneként eltérő lehet, a hasonló osztályba sorolt különböző allergének klinikai szempontból nem szükségszerűen egyenértékűek.
- Élelmiszer allergiák vizsgálatokor elkerülhetik a kimutatást az olyan keringő IgE ellenanyagok, amelyek az allergén módosított (pl. főtt, feldolgozott, vagy emésztett) formája ellen irányulnak, és ez a módosított forma más, mint a tesztben használt. Élelmiszer allergiára vizsgált egyénnél a hamis pozitív eredmény a diéta nem megfelelő megszorításához vezethet, míg élelmiszer-érzékeny egyénnél a hamis negatív eredmény változó súlyosságú anafilaktikus reakciót okozhat.
- Belégzett allergének vizsgálatokor a hamis pozitív eredmények következménye a nem megfelelő gyógyszerelés. Hamis negatív vizsgálati eredmény a megfelelő orvosi kezelés elmaradását okozhatja.
- 500 IU/ml-nél magasabb totál IgE érték mellett legyünk óvatosak az alacsony allergén-specifikus IgE válasz értelmezésénél.
- A termék használati utasítását tökéletesen betartva és jó minőség ellenőrzési eljárásokhoz ragaszkodva az eredmények megbízhatóak és reprodukálhatóak lesznek.
- A Hypo szennyezés zavarja a tesztet. A hypo-val fertőtlenített laboratóriumi edényeket alaposan ki kell öblíteni desztillált vagy ionmentesített vízzel.

MEGJEGYZÉS: Alkohol tartalmu oldatok használata a munkaállomás fertőtlenítésére a műanyag repedezését és a munkaállomás idő előtti tönkremenetelét okozza.

13 Várható értékek

A CLA osztályok eredeti meghatározása olyan tudományos vizsgálatokkal történt, amelyek során kalibrációs görbékét vettünk fel nyírfára specifikus IgE-t tartalmazó szérummal. A pozitív és negatív eredmények közötti küszöböt statisztikailag a normál populáció átlagánál két standard deviáció-val magasabb értékben határoztuk meg.⁶

Javasoljuk, hogy minden laboratórium állapítson meg az érintett populációra érvényes saját vonatkoztatási tartományt.

14 A Standard Eljárás jellemzői

A. Pontosság¹²

Egy vizsgálaton belül: Négy szérummal egyszerre öt-öt párhuzamos reakciót végeztünk. Az átlagos közepes szórástényező valamennyi vizsgált allergénre, LU-ban számítva: 11.7%

Vizsgálatok között: Négy szérummal öt-öt párhuzamos reakciót végeztünk négy különböző napon. Az átlagos közepes szórástényező valamennyi vizsgált allergénre, LU-ban számítva: 11.6%

B. Érzékenység¹²

A kimutathatóság határa a tesztben 10 LU.

C. Specifitás¹²

Normál fiziológiás szintű IgA-val, IgM-mel, IgG-vel vagy IgD-vel nincs kimutatható keresztreakció.

D. Más in vitro allergia módszerekkel összehasonlítva¹²


A CLA allergén és egy alternatív *in vitro* teszt közt a konkordancia átlagosan kb. 95% (hatékonyságot számítva); a konkordanciák 86% és 100% közé esnek.

MEGJEGYZÉS: Sem a módszerek közötti összehasonlításhoz, sem pedig a klinikai szempontból releváns allergének túlnyomó többségének esetében nem áll rendelkezésre standardizált referencia allergén.

15 Irodalom

- Ishizaka K, Ishizaka T, Hornbrook MM. *J Immunol* 1966;97:75.
- Johansson SGO, Bennich H. *Immunol* 1967;13:381.
- Kulczycki A. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:5.
- Johansson SGO, Bennich HH, Berg T. *Prog Clin Immunol* 1972;1:157.
- Homburger HA. *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 1986;23:279.
- Miller SP, Marinkovich VA, Riege DH, Sell WJ, et al. *Clin Chem* 1984;30:1467.
- Agata H, et al. *Ann Allergy* 1993;70:153.
- Safety Management No. CDC-22, *Decontamination of laboratory sink drains to remove azide salts*. Atlanta, GA: Centers for Disease Control, April 30, 1976.
- U.S. Dept. of Health and Human Services. Centers for Disease Control. Guidelines For Prevention of Transmission of Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis B Virus to Health-Care and Public-Safety Workers. February 1989.
- Richardson SH, Barkley WE, eds. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. 2nd ed. Washington, DC: US Dept of Health and Human Services, 1988.
- Federal OSHA Standard 1910.1030. *Bloodborne pathogens*. 29 CFR 1910.1030.
- Kérésre megkapható adatok.

Technikai segítségért kérjük, forduljon a Hitachi Chemical Diagnostics-hoz. Az Egyesült Államokon kívül kérjük, lépjen kapcsolatba a Hitachi Chemical Diagnostics helyi képviselőjével.

EC	REP
 <p>Hitachi Chemical Diagnostics, Inc. 630 Clyde Court Mountain View, California 94043 Tel. (650) 961-5501 Fax (650) 969-2745</p>	<p>Hitachi Chemical Diagnostics, Inc. Hitachi Europe Ltd. Whitebrook Park Lower Cookham Road Maidenhead, Berkshire SL6 8YA United Kingdom Tel. +44 (0) 1628 585 590 Fax. +44 (0) 1628 585 594</p>

©2000, Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
CLA a Hitachi Chemical Diagnostics, Inc. bejegyzett védjegye.

A gyártást a következő szabadalmak valamelyike védi: United States Patent Nos. 3,941,876, 4,031,197, 4,459,360 (és az ezeknek megfelelő kanadai, ausztrál, japán, spanyol, francia, német, olasz, svéd, és brit szabadalmak), 4,510,393, 4,558,013, 5,567,149 (és az ezeknek megfelelő kanadai, ausztrál, japán, spanyol, francia, német, olasz, svéd, svájci, osztrák, belga, holland, luxembourgi, és brit szabadalmak), 4,568,184, 285,485, 4,743,541 (és az ezeknek megfelelő kanadai, ausztrál, japán, francia, német, svéd, svájci, és brit szabadalmak), és 5,082,768 (és az ennek megfelelő japán szabadalom).