

HITACHI

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ AZ OPTIGEN® TESZTHEZ

In vitro diagnosztikum egyszeri felhasználásra



Dok.sz.: 0649-HUN
Rev.: 04
Ellenőrzés dátuma: 10/13

1 Rendeltetészerű felhasználás

Az OPTIGEN teszt *in vitro* diagnosztikai teszt a humán szérumban keringő allergénspecifikus IgE koncentrációjának szemikvantitatív meghatározására. Az IgE-mediált allergiás betegségek klinikai diagnózisának elősegítésére szolgál egyéb klinikai eredményekkel együtt. Az eszközt klinikai laboratóriumokban történő használatra tervezték.

2 A teszt összefoglalása és magyarázata

Az IgE a szérumban található antitestek különálló osztálya, amely az I. típusú túlérzékenységi reakciót, más néven atópiás allergiát közvetíti. Antigénnel (allergénnel) stimulálva a B limfociták allergénspecifikus IgE antitesteket termelhetnek, amelyek a hízósejtek és bazofil leukociták receptoraihoz kötődnek.

Ha ugyanez az allergén belégzés, lenyelés vagy bőrkontaktus révén ismét a szervezetbe kerül, akkor az allergén a sejthez kötött IgE antitestekhez kapcsolódik. Ez a sejt degranulációját és vazóaktív aminok környező szövetekbe való kibocsátását váltja ki. A vazóaktív aminok, pl. hisztamin, felelősek a hörgők simaizmainak összehúzódásáért, a bőr viszketésért, lokalizált duzzadásért és az extracelluláris folyadék nyálkahártyákon keresztüli szivárgásáért, amelyek az I. típusú túlérzékenységi reakciókat jellemzik.

Az I. típusú túlérzékenységi reakció leggyakoribb klinikai manifesztációi közé tartozik a sinusitis, asztma, dermatitis, csalánkiütés és ritkán az anafilaxiás sokk.

A beteg szérumban lévő allergénspecifikus IgE szintjének megállapítása - a kórtörténetre és további vizsgálatokra alapozott klinikai értékelésével együtt - hozzásegítheti az orvost az atópiás allergia diagnózisának megerősítéséhez, és segítséget nyújthat a beteg kezeléséhez.

3 Az eljárás elve

Az OPTIGEN teszt egy kis műanyag eszközt, az ún. pettéket vagy tesztkamrát használva hozza össze a beteg szérumát egyidejűleg többféle allergénnel vagy allergénkeverékkel. A pette polisztirol szilárd fázist és beépített kis lencsét tartalmaz, továbbá egy negatív, blank kontrollt, és egy pozitív, eljárási kontrollt

Az OPTIGEN tesztet el lehet végezni manuálisan vagy az AP720S™ félautomata feldolgozókészülék segítségével,

Az OPTIGEN teszt elvégzésekor egy előmosás után a pettéket a beteg szérumával töltjük meg. Az inkubálás során a szérumban lévő IgE az allergéneket tartalmazó kamrákhoz kötődik. Az inkubáció befejeztével pufferoldattal kimossuk a meg nem kötött szérumkomponenseket a pettékéből.

Ezután enzimmel jelölt anti-IgE antitestet juttatunk a pettékébe. Az antitest a kamrák falához kötött IgE-hez kapcsolódik.

Egy második mosás után a pettéket fotoreagens-keverékkel töltjük meg, amely az enzimmel megjelölt anti-IgE antitesttel kémiai reakcióba lép és ennek során fényt bocsát ki (kemilumineszcencia). Az egyes kamrák által kibocsátott fény mennyisége egyenesen arányos a beteg szérumban lévő allergénspecifikus IgE mennyiségével.

4 Reagensok/Komponensek

OPTIGEN teszt

2-8 °C-on tárolandó, a lejáratú időig. Ne fagyassza!

A komponensek leírása

Egy 20-teszt kitben:

Tesztkamrák

20 Pette

A pette tesztkamrája szilárd fázisú polisztirolba épített, allergén vagy allergénkeveréket kötött lencsét tartalmaz.

Mosópuffer-koncentrátum

Egy palack, 50 ml

Hígítás után az oldat 0,01 M foszfáttal pufferelt só, 0,1% Tween 20-t és 0,001% Na-azid tartósítószerrel tartalmaz.

Antitest reagens

Egy palack, 16 ml

A kék színű oldat tartalma:

Enzimmel megjelölt

kecske antihumán IgE, 0,01 M

foszfáttal pufferelt sóoldata, pH=7,2,

proteinstabilizáló, és 0,1% Proclin® tartósítószer.

AB fotoreagens

Egy palack, 8 ml

Az oldat tartalma:

7-15 mM 3-aminofál-hidrazid (luminol),

5-25 µM fokozóanyag és 0,025 M borátpuffer, pH=9,4

CD fotoreagens

Egy palack, 8 ml

Az oldat tartalma:

0,00125 M etilnarancs,

0,002 M hidrogén-peroxid

Pettedugók (felső)

22 dugó

Fekete dugók a pette tetejére

Pettedugók (alsó)

22 dugó

Fehér dugók a pette aljára

5 Figyelmeztetések

- Az OPTIGEN teszt *in vitro* diagnosztikum.
- A mosópuffer-koncentrátum tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz. A nátrium-azid reakcióba léphet ólom- vagy réz csövekkel, potenciálisan robbanékony fém-azidokat képezve. Ezért tanúsítsunk óvatosságot ennek a reagensnek a kiöntésekor – mindig elegendő vízzel öblítsük le, hogy megakadályozzuk a fém-azidok felhalmozódását a lefolyó-rendszerben.
- Ne használjuk a kit komponenseit a lejáratú dátumon túl! A lejáratú idő minden komponensen szerepel.
- Az OPTIGEN teszt reagenskomponensei összeillő készletet (azaz reagensok és pették) alkotnak. Ne keverjük őket más termékcsoporthal, mert nem kompatibilisek.
- A Hypo (klórtartalmú fertőtlenítőszer) szennyeződés zavarja a tesztet.

6 Reagenskészítés

Mosópuffer:

- Hagyjuk a mosópuffer-koncentrátumot szobahőmérsékletre melegedni. Ellenőrizzük, hogy a hűtőben való tárolás során esetlegesen képződött sókristályok feloldódtak-e. Ha kristályokat látunk, tegyük a szorosan lezárt mosópuffer-koncentrátumot egy pohár meleg vízbe, amíg minden kristály feloldódik.
- Öblítsük át desztillált vízzel a mosópufferes palackot és a csöveket.
- A palack óvatos átfogatásával keverjük össze a mosópuffer-koncentrátumot.

- Töltsük a mosópuffer-koncentrátumos palack tartalmát (50 ml) egy 2 l-es mosópufferes palackba.
- Töltsük fel a mosópufferes palackot desztillált vagy ionmentes vízzel az 1000 ml-es jelig.
- Alaposan keverjük össze.
- A mosópuffer az elkészítéstől számított egy hónapig használható szobahőmérsékleten (20-25 °C) vagy hűtőszekrényben (2-8 °C) tárolva.

Antitest reagens:

- Használat előtt hagyjuk, hogy az antitest reagens szobahőmérsékletre melegedjen.
- Használat előtt óvatosan forgassuk át az antitest reagens palackját.
- Hűtőszekrényben (2-8 °C) tárolva az antitest reagens a lejárati dátumig használható.
- Egy palack antitest reagens húszt (20) OPTIGEN pettéhez elég.

Fotoreagens-keverék:

A fotoreagens-keveréket közvetlenül felhasználás előtt készítsük el!

- Használat előtt hagyjuk, hogy az AB és CD fotoreagens szobahőmérsékletre melegedjenek.
- Egyszer használatos pipettahegyeket használva mérjük össze azonos térfogategységnyi AB és CD fotoreagenst. Pettéenként 250 µl AB fotoreagenst és 250 µl CD fotoreagenst mérjük ki. Pipetázzuk őket egy eldobható edénybe.
- **MEGJEGYZÉS: A reagens szennyeződésének megelőzéséhez minden fotoreagenshez használjunk új pipettahegyet.**
- Óvatos forgatással keverjük össze az edény tartalmát.
- A fotoreagens keveréket az összekeveréstől számított 60 percen belül kell használni.
- **MEGJEGYZÉS: A legjobb eredmény érdekében a fotoreagens-keveréket az elkészítés után azonnal fel kell használni.**

7 Tárolási utasítás

- A kit komponenseit 2-8 °C-on kell tárolni. Az előírás szerint tárolt komponensek a címkékre nyomtatott lejárati időpontig használhatók.
- Ne fagyassza a kit komponenseit.
- A pették nedvszívó anyaggal vannak csomagolva és a csomagot minden használat után jól le kell zárni. Lezárt csomagban és hűtőben, 2-8 °C-on tárolva a pették a címkékre/dobozra nyomtatott lejárati időpontig stabilak.
- Ne használjuk a kit komponenseit, ha 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 kitkomponenst úgy kezeljük, ahogyan az a potenciálisan fertőző humán szérumszérum- és vérmintákra ajánlott. A betegek mintáinak kezelésékor kövessük az általános elővigyázatossági szabályokat vagy más, az intézménynél bevezetett irányelveket.^{2,4}

A manuális módszerre vonatkozóan: a **pettéenként** minimálisan szükséges humán szérumszérumterületek a következők:

500 µl a >20-allergén pettéhez
300 µl a ≤20-allergén pettéhez

A félautomata (az AP 720S használatával történő) módszerre vonatkozóan: a **pettéenként** minimálisan szükséges humán szérumszérumterületek a következők:

600 µl a >20-allergén pettéhez
490 µl a ≤20-allergén pettéhez

A szérumot a következő protokoll szerint kell az OPTIGEN allergiateszteléshez gyűjteni, előkészíteni és tárolni:

1. Vegyünk vért vénából egy 5 ml-es szérumszeparátor csőbe vagy piros kupakú csőbe. A betegnek nem szükséges éhgyomorral érkeznie. Nincs szükség semmiféle speciális előkészületre.
- **MEGJEGYZÉS: A szérumszeparátor cső (SST, serum separator tubes) inert anyagot tartalmaz, amely centrifugáláskor**

elválasztja a szérumot a sejtektől. A hemolízis hátrányosan befolyásolhatja az OPTIGEN allergiatesztet.

2. Óvatosan 3-5-ször forgassuk át a szérumszét csövet.
3. Jelöljük meg a csövet a beteg nevével és a vérvétel dátumával.
4. Hagyjuk a vért az eredeti, bedugaszolt csőben szobahőmérsékleten alvadni max. 2 óráig, vagy amíg megelvárad.
5. Centrifugáljuk az alvadtt vért 10 – 20 percig 2000-3000 x g-vel vagy 2500-3600 rpm-mel az eredeti, bedugaszolt csőben.
6. Vigyük át a szérumot a centrifugacsőből egy megfelelően jelölt tiszta műanyag tárolócsőbe.
7. A szérumszétmintákat 2-8 °C-on maximum egy hétig lehet eltartani. Hosszabb időre tároljuk a mintákat fagyaszttva, -20 °C-on.

MEGJEGYZÉS: A szérum ismételt fagyasztása-olvasztása kerülendő. A fagyaszttott mintákat felolvasztás után, centrifugálás előtt alaposan keverjük fel. A tárolt mintákat közvetlenül tesztelés előtt, újra le kell centrifugálni 10-20 percig 2000-3000x g-vel vagy 2500-3600 rpm-mel.

9 A teszt kivitelezése

A teszt manuális elvégzésére vonatkozó részletes útmutatásokról lásd az OPTIGEN **Felhasználói útmutatót** (P/N 60501) és a **CLA-1 luminométer felhasználói kézikönyvét** (Dok. szám: 0277). Ha az AP 720S félautomata műszert használja, kérjük, olvassa el az AP 720S kezelői kézikönyvét (Dok. szám: 0780) és az AP 720S LCD panel útmutatóját (dok. szám: 0781).

Általunk biztosított anyagok

- OPTIGEN teszt (lásd: 4. pont, REAGENSEK/KOMPONENSEK)

Szükséges, de a kitben nem megtalálható anyagok

- OPTIGEN eszközkészlet, tartalma:
 - Munkaállomás állvány, maximum 40 tesztkamrához
 - Munkaállomás gyűjtőedény
 - Mosópufferes palack, 2 l, beosztásos.
 - Eldobható reagenscsészék, 10 ml-es csészék
 - 3 cm³-es Luer-lock záras fecskendő
 - Elektronikus vagy manuális fix térfogatú pipetta (nem feltétlenül)
- Mérőhenger vagy lombik, 1 l-es, mosópuffer készítéséhez
- Ionmentes vagy desztillált víz
- 10 ml-es vagy 5 ml-es szérumszeparátor csövek vagy piros kupakos csövek, mintavételhez
- Centrifuga 2000-3000 g-vel vagy 2500-3600 rpm fordulatszámmal
- Tiszta, műanyag tárolócsövek, minta előkészítéséhez
- Nedvszívó papírtörülközők
- Tiszta, szálmentes törők
- CLA-1 luminométer rendszer

A pették és a betegek mintáinak előkészítése

1. Közvetlenül használat előtt centrifugálja a szérumszétmintákat, ha a mintát a teszt napján nem centrifugálták (lásd. 8. pont, "Mintagyűjtés és előkészítés").
 2. Vegyük ki a pettét (betegenként egyet) a csomagból.
 3. Zárjuk vissza a csomagot és tegyük vissza a kítet a hűtőszekrénybe.
 4. Az ablakokat lefelé fordítva jelöljük meg a pettét a megfelelő betegazonosítóval.
- MEGJEGYZÉS: Amikor nem használjuk, tartsuk a kítet 2-8 °C-on.**

Eljárás

A. Készítsük el a mosópuffert a 6. pont, "REAGENSKÉSZÍTÉS" utasítása szerint.

B. Rehidratáljuk a pettét

1. A lefolyóba vagy a gyűjtőedénybe ürítve telítsük a mosópufferes palackot, amíg a buborékok el nem távoznak.
2. Illesszük a csap végét az első pette tetejére.
3. Mossunk meg minden pettét egyszer 10 ml mosópufferrel, a palack pumpáját egyszer, mérsékelt erővel lenyomva.

MEGJEGYZÉS: Hagyjuk, hogy minden pette teljesen kiürüljön, mielőtt továbbmennénk a következő lépésre!

C. Szívjunk szérumot a pettébe

1. Ütögessük a pettét egy nedvszívó papírhoz, hogy a folyadékmaradékot eltávolítsuk.
2. Illesszük a 3 cm³-es fecskendőt a pette tetejére.
3. Tegyük a pette alját a beteg szérumát tartalmazó csőbe.

MEGJEGYZÉS: Kerüljük el a csapadékot és/vagy a lipidréteget.

4. **LASSAN** húzzuk ki a fecskendő dugattyúját szérumot szívva a pettébe, amíg a szérum a legfelső ablakot el nem fedi. **Ellenőrizzük, hogy nincsenek-e buborékok.**

MEGJEGYZÉS: Ellenőrizzük, hogy a szérum teljesen fedi a pozitív kontrollablakot!

D. Dugaszoljuk be, és inkubáljuk a pettéket.

1. A fecskendőt a tesztkamra tetején hagyva illesszünk egy fehér, dugót a pette aljába.
2. Távolítsuk el a fecskendőt, és tegyünk egy fekete dugót a pette tetejébe.
MEGJEGYZÉS: A dugókat teljesen be kell nyomni a szivárgás megelőzése céljából
3. Állítsuk a szérummal töltött pettéket a munkaállomás állványába.
4. Inkubáljuk őket szobahőmérsékleten **2 óráig +/-10 percig.**

E. Folyassuk ki a szérumot

1. Vegyük ki a pették alsó dugóját, és helyezzük vissza a pettéket a munkaállomás állványába.
2. Távolítsuk el a pették felső dugóját, a szérumot a munkaállomás gyűjtőedényébe folytatva.
3. Szárítsuk le a dugókat, és őrizzük meg őket a továbbiakhoz.

F. Mossuk meg a pettéket

1. Telítsük a mosópufferes palackot addig, amíg a légbuborékok el nem távoznak.
2. Csatlakoztassuk a csap végét az első pette tetejéhez.
3. Mossuk meg a pettéket 10 ml mosópufferrel, a palack pumpáját egyszer, mérsékelt erővel lenyomva.
MEGJEGYZÉS: Hagyjuk, hogy minden pette teljesen kiürüljön, mielőtt továbbmennénk a következő lépésre!

G. Töltsük fel a pettéket antitest reagenssel

1. Használat előtt hagyjuk, hogy a reagensek szobahőmérsékletűre melegedjenek.
2. Használat előtt óvatosan keverjük fel az antitest palackját.
3. Az antitest reagens szennyeződésének elkerüléséhez a szükséges mennyiséget tegyük egy eldobható csészébe, vagy más edénybe.
4. Gyengéden ütögessük a pettét egy nedvszívó papírhoz, hogy a mosópuffer maradványait eltávolítsuk.
5. Illesszük a 3 cm³-es fecskendőt a pette tetejére.
6. Helyezzük a pette alját az antitest reagens edényébe.
7. **LASSAN** húzzuk ki a fecskendő dugattyúját antitest reagenst szívva a pettébe, amíg a legfelső ablakot is el nem fedi.
MEGJEGYZÉS: Ellenőrizzük, hogy az antitest reagens teljesen fedje a legfelső ablakot. Ez megakadályozza a teszt eredményét zavaró légbuborékok képződését.

H. Dugaszoljuk be és inkubáljuk a pettéket.

1. A fecskendőt a tesztkamra tetején hagyva illesszünk egy fehér dugót a pette aljába.
2. Távolítsuk el a fecskendőt, és dugjuk be a fekete felső dugót.
3. Állítsuk a reagenssel töltött pettéket a munkaállomás állványába. Inkubáljuk őket szobahőmérsékleten **2 óráig +/-10 percig**, feljegyezve az inkubálás kezdetét a Vizsgálati tervlapra.
Megjegyzés: Amikor nem használjuk, tartsuk a kitet 2-8 °C-on.

I. Távolítsuk el az antitest reagenst

1. Vegyük ki a pették alsó dugóját, és helyezzük vissza a pettéket a munkaállomás állványába.
2. Távolítsuk el a pették felső dugóját, a folyadékot a munkaállomás gyűjtőedényébe folytatva. Írjuk fel az inkubálás végét a Vizsgálati tervlapra.
3. Szárítsuk le a dugókat, és őrizzük meg őket a továbbiakhoz.

J. Mossuk meg a pettéket

1. A lefolyóba vagy a gyűjtőedénybe ürítve telítsük a mosópufferes palackot, amíg a buborékok el nem távoznak.
2. Csatlakoztassuk a csap végét az első pette tetejéhez.
3. Mossuk meg a pettéket 10 ml mosópufferrel, a palack pumpáját egyszer, mérsékelt erővel lenyomva.

MEGJEGYZÉS: Hagyjuk, hogy minden pette teljesen kiürüljön, mielőtt továbbmennénk a következő lépésre.

K. Készítsük el a fotoreagenskeveréket

1. Készítsünk fotoreagenskeveréket a 6. pont „Reagenskészítés” utasításai szerint.
MEGJEGYZÉS: Használat előtt hagyjuk, hogy a fotoreagens szobahőmérsékletűre melegedjenek!
MEGJEGYZÉS: A legjobb eredmény érdekében a fotoreagenskeveréket az elkészítés után azonnal fel kell használni.

L. Töltsük fel a pettéket fotoreagenskeverékkel

1. Gyengéden ütögessük a pettét egy nedvszívó papírhoz, hogy a mosópuffer maradványait eltávolítsuk.
2. Illesszük a fecskendőt a pette tetejére.
3. Helyezzük a pette alját a fotoreagenskeverék edényébe.
4. **LASSAN** húzzuk ki a fecskendő dugattyúját fotoreagenskeveréket szívva a pettébe, amíg az teljesen meg nem telik.
MEGJEGYZÉS: Ellenőrizzük, hogy a fotoreagenskeverék teljesen fedje a legfelső ablakot.

M. Dugaszoljuk be a pettéket

1. A fecskendőt a tesztkamra tetején hagyva illesszünk egy fehér, alsó dugót a pettébe.
2. Távolítsuk el a fecskendőt és dugjuk be a fekete felső dugót.
3. Vizsgáljuk meg, hogy a bedugasztott pették nem szivárognak-e.
4. Töröljük le a fotoreagenst a pette külsejéről egy tiszta, nedves szálmentes törlővel.

N. Hagyjuk a feltöltött pettéket 10 percig állni

1. A luminométer leolvasása előtt inkubálja az összes tesztkamrát 10 percig. A fotoreagens hozzáadása után az összes tesztkamrát 60 percen belül le kell olvasni.
2. További információért forduljunk a „Luminométer használata” „Eredmények leolvasása” bekezdéshez.

O. A teszt eredményeinek leolvasása a CLA-1 luminométerrel

Megjegyzés: Semmilyen körülmények között ne nyissuk fel a CLA-1 luminométer műszerházát. A műszer felnyitása ÉRVÉNYTELENITI a garanciát, működésképtelenné teszi a CLA-1 luminométert, gyári beállítást tesz szükségessé, és az üzemeltetőt súlyos személyi sérülésnek teszi ki.

1. Helyezzük a pettét a pette-kazettatálcára
a. Illesszük a pettét a pettekazettába a OPTIGEN Vizsgálati tervlapon megadott sorrendben.
b. Csúsztassuk a pettét fekete dugóval előre és ablakokkal felfelé a pette-kazettatálcá végéig.
c. Vizsgáljuk meg, hogy a behelyezett pette nem szivárog-e. Töröljük le tiszta, nedves szálmentes törlővel.
2. Helyezzük a pettekazettát a CLA-1 luminométerbe
a. A CLA-1 luminométer “OPEN/CLOSE” (NYITÁS/ZÁRÁS) gombjának egyszeri megnyomásával nyissa ki a szállító ajtót.
b. Fogjuk meg a pettekazetta fogóit, és nyomjuk a megrakott tálcát a kazetta szállító nyílásába, amíg nem kattán.
c. Ismét nyomjuk meg az “OPEN/CLOSE” gombot. Ekkor a pettekazetta automatikusan a CLA-1 luminométerbe kerül, és a szállítóajtó becsukódik.
3. Programozzuk a mintalistát a CLA-1 luminométerbe
a. A luminométer Vizsgálati tervlap alapján azonosítsuk a pettekazetta öt pozíciójába bevitt paneleket.
b. A CLA-1 luminométer “UP” (FEL) vagy “DOWN” (LE) gombjának lenyomásával választhatunk a panelek közül.
c. Amikor a megfelelő panel jelenik meg a feltüntetett kazettapozícióban, nyomjuk meg az “ENTER” gombot.
d. Addig ismételjük a fenti lépéseket, amíg a pettekazettában lévő valamennyi pette megfelelően a CLA-1 luminométerbe nincs programozva.
4. Olvassuk le és nyomtassuk ki az eredményeket
a. Az 5 pettekazetta-pozíció beprogramozása után a CLA-1 luminométer kiírja a “BETÖLTÉSI LISTÁT” (LOAD LIST). Amennyiben ez megfelel a pettekazettában lévő pettéknak, az “ENTER” gomb megnyomásával kezdjük el az analízist.
b. A CLA-1 luminométer kb.1 perc múlva kinyomtatja az eredményeket.

- c. Írjuk a betegek nevét a kinyomtatott teszteredményekre, és csatoljuk az eredményeket a CLA-1 luminométer tesztjegyzőkönyvéhez.

10 Minőségellenőrzés

A. Belső kontrollkamrák

Minden pette tartalmaz egy pozitív, eljárási kontrollt és egy negatív, blank kontrollt. Ezek a kontrollok az egyes pettek belső indikátoraiként működnek.

Pozitív eljárási kontroll: A pozitív eljárási kontroll a kit reagenseinek működését ellenőrzi. A pozitív eljárási kontrollnak 243 LU vagy nagyobb értéket kell adnia a CLA-1 luminométeren.

Negatív blank kontroll: A negatív blank kontroll az esetleges nem-specifikus IgE kötést kompenzálja. A negatív blank kontrollnak 69 LU vagy alacsonyabb értéket kell adnia a CLA-1 luminométeren.

Nem elfogadható belső kontrolleredmények: Ha valamelyik belső kontroll eredménye nem esik a fent megadott elfogadható tartományba, akkor a következőket kell tenni:

- Helyezzük vissza a pettet a pettekezetébe (ügyeljünk a pontos illeszkedésre), és újra olvassuk le.
- Ha az eredmény még mindig nem elfogadható, kövessük a 6. és 7. bekezdéseket.

B. IgE pozitív és negatív kontrollszérumok

A Hitachi Chemical Diagnostics javasolja, hogy az OPTIGEN allergénspecifikus IgE teszthez használt minden új gyártási számú kit reagenseit és petteit teszteljék két kontrollszérummal: IgE pozitív kontrollszérummal és IgE negatív kontrollszérummal.

A szabályozó hatóságok a pozitív és negatív kontrollszérumok ennél gyakoribb használatát is megkövetelhetik. Speciális részletekért forduljanak saját szabályozó hatóságaikhoz.

OPTIGEN IgE pozitív és negatív kontrollszérumok beszerezhetők a Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.-től, és mellékeljük hozzájuk a várható értékeket. A kontrollszérumokat fagyasztva szállítjuk, és felhasználásig fagyasztva tárolandók.

A belső kontrolloknak és szérumkontrolloknak meg kell felelniük a specifikációknak, hogy az eredmények jelenthetőek legyenek.

11 Eredmények

A CLA-1 luminométer a petteben található allergének által kibocsátott fényt méri. A luminométer a fénykibocsátást lumineszcencia egységekben (LU) méri. A beteg IgE válaszána kiszámításához a műszer az egyes allergéneknek megfelelő emisszióból automatikusan levonja a negatív kontroll emisszióját. 0-tól 4-ig terjedő CLA osztályértékeket adunk meg a petteben lévő egyes allergének által kibocsátott fény mennyisége alapján. Ezekből az értékekből áll össze az OPTIGEN allergénspecifikus IgE teszt CLA allergiaosztályozási rendszere. Az alábbi táblázat mutatja az egyes CLA osztályoknak és a műszeren leolvasott értékeknek megfelelő IgE szinteket.

CLA osztály	nettó LU	Kimutatott antitestszint allergénspecifikus IgE koncentráció
4	>242	Nagyon magas antitestszint
3	143-242	Magas antitestszint
2	66-142	Közepes antitestszint
1	27-65	Alacsony antitestszint
0	0-26	Antitest nem mutatható ki

Az 1 vagy annál magasabb CLA osztályértékek progresszíven növekvő allergénspecifikus antitestkoncentrációnak felelnek meg. A 0 CLA osztály az allergénspecifikus antitestek hiányát vagy nem kimutatható szintjét jelenti.

12 Az eljárás korlátai

- A mért eredmények +/- 1 osztály eltérést mutathatnak. A gyengén pozitív eredményt a klinikai eredményekkel együtt kell értelmezni.
- Hemolizált vagy lipémiás szérum károsan befolyásolhatja az OPTIGEN tesztet.

- Definitív klinikai diagnózist és/vagy immunterápiás dozírozási programot sosem szabad egyetlen diagnosztikus teszt eredményére alapozni, hanem ezeket az orvosnak az összes klinikai és laboratóriumi lelet együttes figyelembe vételével kell megállapítania.
 - Az OPTIGEN teszt félkvantitatív eredményt ad. A módszernek nincs abszolút standardja, az osztályok meghatározása önkényes.
 - Mivel a specifikus IgE antitestkötő-képesség allergénekenként eltérő lehet, a hasonló osztályba sorolt különböző allergének klinikai szempontból nem szükségszerűen egyenértékűek.
 - Élelmiszerallergiák vizsgálatokor elkerülhetik a kimutatást az olyan keringő IgE antitestek, amelyek az allergén módosított (pl. főtt, feldolgozott, vagy emésztett) formája ellen irányulnak, és ez a módosított forma más, mint a tesztben használt. Élelmiszerallergiára vizsgált egyénnél a hamis pozitív eredmény a diéta nem megfelelő megszorításához vezethet, míg élelmiszerérzékeny egyénnél a hamis negatív eredmény változó súlyosságú anafilaxiás reakciókat okozhat.
 - Légúti allergia vizsgálatokor a hamis pozitív eredmények következménye a nem megfelelő gyógyszerelés. Hamis negatív vizsgálati eredmény a megfelelő orvosi kezelés elmaradását okozhatja.
 - 2500 NE/ml-nél magasabb összes IgE érték mellett legyünk óvatosak az alacsony allergénspecifikus IgE válasz értelmezésénél.
 - Az eredmények megbízhatók és reprodukálhatók lesznek, amennyiben a tesztet a használati utasítást tökéletesen követve, és a jó minőségellenőrzés birtokában végzik.
 - A Hypo (klórtartalmú fertőtlenítőszer) szennyezés zavarja a tesztet. A Hypo-val fertőtlenített laboratóriumi edényeket alaposan ki kell öblíteni desztillált vagy ionmentes vízzel.
- MEGJEGYZÉS: Alkoholos oldatok használata a munkaállomás fertőtlenítésére a műanyag pederezését és a munkaállomás idő előtti tönkremenetelét okozza.**

13 Várt értékek

Javsolt, hogy minden laboratórium saját maga határozza meg az érdekelt értékek várt tartományát. A vágási küszöb- a pozitív és negatív eredmények között- három standard deviációként kerül meghatározásra a normal populáció átlagos értéke felett.

14 A standard eljárás teljesítményének jellemzői

A. Megbízhatóság⁵

Tesztben belül: Tíz szérummal párhuzamos vizsgálatot végeztünk adott gyártási számot használva. Az átlag variációs koefficiens valamennyi vizsgált allergénre osztályonként számítottuk ki:

Osztály	% CV
1	31
2	16
3	16
4	5

Tesztek között: Egy szérummal tíz különböző napon 10-szer ismételtük meg a tesztet. Az átlag variációs koefficiens valamennyi vizsgált allergénre osztályonként számítottuk ki:

Osztály	% CV
1	25
2	15
3	9
4	1

B. Kimutathatósági határ⁵

A teszt kimutathatósági határa 12-26 LU és allergénfüggő.

C. Analitikai specifikusság⁵

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

D. Összehasonlítás más *in-vitro* allergiamódszerekkel⁵

Az egyes CLA allergének és egy alternatív *in vitro* teszt közt a konkordancia (hatékonyságot számítva) átlagosan kb. 90%; a konkordanciák 83% és 98% közé esnek.

MEGJEGYZÉS: Sem a módszerek, sem pedig a klinikai szempontból releváns allergének túlnyomó többségének összehasonlításához nem állnak rendelkezésre standardizált referenciaallergének.

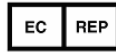
15 Irodalom

1. Safety Management No. CDC-22, *Decontamination of laboratory sink drains to remove azide salts*. Atlanta, GA: Centers for Disease Control, April 30, 1976.
2. 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.
3. Richardson SH, Barkley WE, eds. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. 2nd ed. Washington, DC: US Dept of Health and Human Services, 1988.
4. Federal OSHA Standard 1910.1030. *Bloodborne pathogens*. 29 CFR 1910.1030.
5. Data available upon request.

Technikai segítségért kérjük, forduljon a Hitachi Chemical Diagnostics-hoz, vagy a forgalmazó helyi képviselőjéhez. Amennyiben nem az Egyesült Államokban tartózkodik, kérjük, forduljon a Hitachi Chemical Diagnostics helyi képviselőjéhez.



Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
630 Clyde Court
Mountain View, California 94043
Tel. (650) 961-5501
Fax (650) 969-2745



Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
Hitachi Europe Ltd.
Whitebrook Park
Lower Cookham Road
Maidenhead, Berkshire SL6 8YA
Egyesült Királyság
Tel. +44 (0) 1628 585 590
Fax. +44 (0) 1628 585 594

©2010, Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.
A OPTIGEN a Hitachi Chemical Diagnostics, Inc. bejegyzett védjegye

A gyártást a következő szabadalmak közül egy vagy több védi: Az Egyesült Államok 3,941,876, 4,031,197, 4,459,360 sz. szabadalmi (és az ezeknek megfelelő kanadai, ausztrál, japán, spanyol, francia, német, olasz, svéd, és brit szabadalmak) 4,510,393, 4,558,013, 5,567,149 sz. szabadalmi (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 sz. szabadalmak (és az ezeknek megfelelő kanadai, ausztrál, japán, francia, német, svéd svájci, és brit szabadalmak) és 5,082,768 (és az ennek megfelelő japán szabadalom).