

PROTIA Allergy-Q 96M panel



Imunoblotová metoda pro kvantitativní stanovení alergen-specifických IgE protilátek v lidském séru nebo plasmě

[Určené použití]

PROTIA Allergy-Q 96M panel je *in vitro* diagnostický test pro kvantitativní stanovení koncentrace alergen-specifických IgE v lidském séru s využitím imunoblotové techniky.

[Souhrn a vysvětlení testu]

Atopická alergie je hypersenzitivní imunologický stav, zprostředkovaný protilátkami imunoglobulinu E (IgE). Lymfocytární B buňky, stimulované specifickým alergenem, produkují protilátky IgE proti antigenu. Protilátky IgE se prostřednictvím Fc oblasti vážou na receptory na povrchu žírných buněk nebo bazofilních leukocytů. Následná vazba alergenu na specifické IgE, vázané na buňky, vyvolává degranulaci buněk a uvolnění vazoaktivních aminů, způsobujících kontrakci hladkého svalstva, svědění, otok a transmembránový únik extracelulárních tekutin. Nejčastějšími klinickými projevy tohoto biologického procesu jsouenná rýma, astma, dermatitida, kopřivka a anafylaktický šok. Vyhodnocení hladiny IgE v séru pacienta pro různé alergeny je cenné pro diagnostiku a léčbu atopické alergie.

[Princip testu]

PROTIA Allergy-Q, multiplexní diagnostická souprava pro diagnostiku alergie, založená na principu enzymové imunoanalýzy, obsahuje nitrocelulózoové membrány, na kterých jsou v pravidelných intervalech adsorbovány různé alergeny, což umožňuje testovat desítky specifických alergenů v jednom testu.

PROTIA Allergy-Q může testovat velké množství různých alergenů v jednom testu díky použití nové techniky paralelního uspořádání membrán ve srovnání s jinými produkty, které mají pouze jeden pruh membrány a pojmom tak alergenů méně. Pokud se protilátky IgE specifické pro alergen naváží na antigeny, jsou po promytí imobilizovány na membráně. Imobilizované IgE protilátky se vážou na biotinem potažené anti-lidské IgE protilátky a poté je biotín zachycen streptavidinem konjugovaným s alkalickou fosfatázou. Barva se po přidání substrátu v posledním inkubačním kroku vyvine pomocí enzymu a intenzita barvy se analyzuje pomocí zařízení pro měření barvy.

[Dodávané reagentie] 1 Kit

Č.	Název	Symbol	Množství
1	Panel alergenů	Alergen Panel	20 panelů
2	Ředící roztok na vzorky	Sample DIL	20 ml x 1
3	Roztok protilátky	Antibody SOLN	20 ml x 1
4	Roztok enzymu	Enzyme SOLN	20 ml x 1
5	Roztok substrátu	Substrate SOLN	20 ml x 1
6	Promývací roztok 20x	Wash SOLN 20x	20 ml x 1
7	CCD blokátor		4 x 10 µl

[Ostatní potřebné vybavení]

- Manuální metoda: Q-Smart (Optické měřicí zařízení) a Orbitální kývačka nebo podobná
- Semi-automatická metoda: Q-Smart (Optické měřicí zařízení) a Q-Processor (Automatický procesor pro inkubace a mytí)
- Plně-automatická metoda: Q-STATION ELITE (Automatické zařízení pro pipetování vzorků a reagentií, inkubaci, mytí, sušení a měření)

[Vzhled]

- Alergenový panel: plastový panel se třemi bílými paralelně umístěnými membránami.
- Roztok na ředění vzorků: modrofialová kapalina
- Roztok protilátky: Bezbarvá, nebo nažloutlá kapalina
- Roztok enzymu: Bezbarvá, nebo nažloutlá kapalina
- Roztok substrátu: Nažloutlá kapalina
- Promývací roztok 20x: Bezbarvá kapalina
- CCD blokátor: Bezbarvá kapalina

[Metoda]

1. Příprava reagentií a vzorků

(1) Příprava promývacího roztoku (1x)

Před použitím naředte 1:19 koncentrát promývacího roztoku 20x deionizovanou vodou, např.: 19 ml deionizované vody + 1 ml koncentrátu = 20 ml promývacího roztoku 1x.

Poznámka: Naředěný promývací roztok nesmí být uskladněn k dalšímu použití a přebytek je nutné zlikvidovat.

Blokace CCD je popsána na samostatném dokumentu.

(2) Příprava vzorků

Pro provedení testu je potřeba sérum nebo plasma. Před analýzou vzorek centrifugujte, aby byly odstraněny případné nečistoty a zbytky červených krvinek. Hemolyzované nebo kontaminované vzorky mohou ovlivnit správnost výsledků.

Vzorky skladujte při 2 – 8 °C pokud jsou použity do dvou týdnů a při –15 °C nebo nižší teplotě pro delší skladování. Není doporučeno opakovaně zamrazovat a rozmrazovat vzorky.

2. Postup práce

Všechny reagentie musí být před použitím temperovány při pokojové teplotě 30 minut a těsně před použitím řádně promíchány. Po vytemperování na pokojovou teplotu otevřete balení reagentií.

Poznámka: Alergenové panely nevyužité na test musí být uchovány v hliníkovém sáčku a lednici.

Manuální metoda

- Na každý blot napipetujte 500 µl naředěného promývacího roztoku a inkubujte na kývačce po dobu 5 minut (při doporučené 100 rpm). Promývací roztok vyklepejte.
- Na každý blot napipetujte 300 µl roztoku na ředění vzorků.
- Přidejte 100 µl vzorku a inkubujte na kývačce při pokojové teplotě 45 minut.
- Slijte a vyklepejte roztok z panelů. 2x promyjte panely naředěným mycím roztokem. Při každém promytí přidejte 400 µl naředěného promývacího roztoku, inkubujte 5 minut na kývačce a roztok vyklepejte. Na panelu nesmí zůstat roztok.
- Přidejte 400 µl roztoku protilátky a inkubujte na kývačce 30 minut.
- Propláchněte panely podle postupu uvedeného v bodu 4).
- Přidejte 400 µl roztoku enzymu a inkubujte na kývačce 30 minut.
- Propláchněte panely podle postupu uvedeného v bodu 4).
- Přidejte 400 µl roztoku substrátu a inkubujte na kývačce **a ve tmě 20 minut**.
- Vyklepejte roztok substrátu z panelů a propláchněte 400 µl deionizované vody.
- Vysušte panely na vzduchu, nebo v sušárně (před analýzou musí být membrána kompletně suchá).
- Vložte panely do zařízení Q-Smart nebo Q-STATION ELITE a vyhodnoťte výsledky. Pro více detailů si přečtěte příslušné manuály.

Semi-automatická metoda

- Vložte do Q-Processoru alergologické panely a reagentie.
 - Postupujte podle instrukcí v manuálu pro Q-Processor.
 - Po ukončení práce na přístroji vysušte panely stejně jako u manuální metody a vyhodnoťte výsledky pomocí Q-Smart.
- Pro více detailů si přečtěte příslušné manuály.

Plně-automatická metoda

- Vložte do Q-STATION ELITE alergenové panely a reagentie.
- Postupujte podle instrukcí v manuálu pro Q-STATION ELITE. Q-STATION ELITE automaticky provede celý postup pipetování vzorků a reagentií, inkubace, mytí, sušení i měření.

3. Vyhodnocení a interpretace

1) Množství alergen-specifických IgE protilátek je kvantitativně analyzováno v jednotkách IU/ml pomocí Q-Smart a Q-STATION ELITE. Třída pozitivita je vyhodnocena podle tabulky níže.

Alergen-specifické IgE		
IU/ml	Třída	Popis třídy pozitivita
0,00 – 0,34	0	Negativní
0,35 – 0,69	1	Nízká
0,70 – 3,49	2	Středně pozitivní
3,50 – 17,49	3	Vysoká
17,50 – 49,99	4	Velmi vysoká
50,00 – 99,99	5	Velmi vysoká
≥ 100	6	Velmi vysoká

2) Koncentrace celkového IgE (tIgE) je rovněž vyjádřena v IU/ml a může být kvantitativně analyzována v rozmezí 0 – 2000 IU/ml.

4. Kontrola kvality

Kontrolní line (C1, C2) musí mít vyšší intenzitu zbarvení než S2, S3 linie. Pokud se tak nestane, není měřicí zařízení schopno vyhodnotit výsledek správně. V takovém případě je doporučeno test zopakovat.

5. Výkonnostní charakteristiky

- Limit detekce: 0,15 IU/ml
- Analytická specifita: Nejsou potvrzeny detekovatelné zkřížené reaktivity s IgA, IgM, IgG nebo IgD až do 2 násobku normální fyziologické hladiny.
- Shoda: 92,6% v porovnání s kvantitativní referenční metodou (*in vitro* systém) se 1382 alergeny z 347 sér.

[Upozornění k použití]

- Pouze pro diagnostiku *in vitro* a profesionální použití.
- Test **PROTIA Allergy-Q** může být použit jako pomocný prostředek pro klinickou diagnostiku. Definitivní klinickou diagnostiku nebo režim dávkování pro imunoterapii by měl stanovit lékař po vyhodnocení a zvažení všech klinických a laboratorních nálezů.
- Je možné, že se mohou vyskytnout rozdíly mezi výsledky testu **PROTIA Allergy-Q** a výsledky testů *in vivo* a/nebo jiných testů *in vitro*, protože neexistuje žádný národní nebo mezinárodní standard a extrakty alergenů se mohou mezi jednotlivými výrobci lišit.
- Falešně pozitivní výsledky testů mohou vzniknout v důsledku zkřížené reaktivity testovaných antigenů s jinými antigeny.
- Nekuřte, nejezte a nepijte v prostorách, kde se pracuje se vzorky nebo výrobky.
- Všechny vzorky mohou potenciálně obsahovat neznámé infekční materiály.

Při manipulaci se vzorky používejte jednorázové rukavice a po testu si umyjte ruce.

- 7) Veškerý biologický materiál je považován za potenciálně infekční. Při manipulaci s ním dodržujte příslušné předpisy.
- 8) Všechny použité biologický materiál a komponenty souprav zlikvidujte podle místních předpisů.
- 9) Nepoužívejte soupravy po uplynutí doby použitelnosti.
- 10) Panely s alergeny jsou baleny s vysoušedlem a po každém použití by měly být řádně uzavřeny.
- 11) Některá činidla, obsažená v soupravě, obsahují azid sodný jako konzervační látku. Je známo, že azid sodný reaguje s olovem nebo mědí, čímž vzniká potenciálně výbušný azid kovu. Proto vždy proplachujte nadměrným množstvím vody, abyste zabránili vzniku azidu kovu ve vodovodních systémech.
- 12) Roztok substrátu může obsahovat černé sraženiny. Tento jev je běžný a nemá žádný vliv na výsledky testu.
- 13) Dbajte na to, aby se v reagenčních netvořily bubliny. Zejména při použití automatických zařízení je třeba bublinky před zahájením testu odstranit, protože mohou ovlivnit objem dávkování reagenčí.
- 14) Pokud nejsou membrány po konečné reakci zcela vysušeny, mohou být výsledky zkoušky analyzované měřicími přístroji nesprávné.

[Balení] 1 Kit (20 Testů)

[Skladování] Při teplotě +2 až +8°C, CCD blokátor -15°C nebo méně pro dlouhodobé skladování / v lednici při 2-8°C po dobu dvou týdnů.

[Expirace] 24 měsíců od data výroby (3 měsíce od otevíření).

[Použité symboly]

Lot No.	Store at 2-8°C	In vitro diagnostic medical device
Manufacturing date	CE mark	Catalogue number
Manufacturer	Shelf life	European Authorized Representative
Consult instructions for use	Be cautious in use and consult instruction for use	

[Výrobce]

ProteomeTech Inc.
A-702 & 813 & 1103 & 1104, 401 Yangcheon-Ro, Gangseo-Gu,
Seoul 07528, Republic of Korea
Tel: +82-2-6968-5278
Website: www.proteometech.com, E-mail: protia@proteometech.com

[Evropský autorizovaný představitel]

MT Promedt Consulting GmbH
Ernst-Heckel-Straße 7, 66386 St. Ingbert, Germany
Tel: +49-6894-581020, Fax: +49-6894-581021
E-mail: info@mt-procons.com

[Panel testů]

1. PROTIA Allergy-Q 96M panel

Č. (1)	Alergen (2)	Kód	Skupina
1	Celkové IgE	tIgE	IgE
2	Domácí prach	h1	
3	<i>D. pteronyssinus</i>	d1	
4	<i>D. farinae</i>	d2	
5	Kočičí epitel & srst	e1	
6	Psí epitel	e5	
7	Vaječný bílek	f1	
8	Mléko	f2	
9	Šváb	i6	
10	Arašidy	f13	
11	Sójový bob	f14	
12	Pšenice	f4	
13	Olše	t2	
14	Břiza	t3	
15	Dub	t7	
16	Ambrozie obecná	w1	
17	Chmel japonský	w22	
18	Pelyněk	w6	
19	<i>Alternaria alternata</i>	m6	
20	<i>Cladosporium herbarum</i>	m2	
21	<i>Aspergillus fumigatus</i>	m3	
22	Krab	f23	
23	Krevety	f24	
24	Makrela	f206	
25	Žito kultivované	g12	
26	CCD	o214	
27	Broskev	f95	
28	Jablko	f49	
29	Sezam	f10	
30	<i>Acarus siro</i>	d70	
31	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	d72	
32	Tomka vonná/ Srha laločnatá/ Rákos obecný/ Psineček	g1/ g3/ g7/ g9	
33	Troskut prstnatý	g2	
34	Bojínek luční	g6	
			Běžné
			Domácí
			Pily

35	<i>Penicillium notatum</i>	m1	
36	<i>Candida albicans</i>	m5	
37	Líska	t4	
38	Olívovník	t9	
39	Javor klen	t11	
40	Vrba	t12	
41	Topol	t14	
42	Jasan bílý	t15	
43	Borovice vejmutovka	t16	
44	Kryptomerie japonská	t17	
45	Akát	t19	
46	Kopretina bílá	w7	
47	Pampeliška	w8	
48	Jitrocel	w9	
49	Slanobýl	w11	
50	Zlatobýl obecný	w12	
51	Laskavec	w14	
52	Latex, kaučukovník	k82	Ostatní
53	Včelí jed	i1	Hmyz
54	Vosí jed	i3	
55	Myš / Potkan	e71/ e73	Zvěř
56	Králík	e82	
57	Morče	e6	
58	Ovce, vlna	e81	
59	Křeček	e84	
60	Kůň	e3	
61	Treska (Gadus spp.)	f3	Ryby (Mušle)
62	Tuňák/ Losos	f40/ f41	
63	Platýs/ Ančovička/ Treska pestrá (Theragra chalcogramma)	f254/ f313/ f413	
64	Humr / Oliheň	f80/ f58	
65	Úhoř	f264	
66	Slávky/ Ústřice/ Škeble / Hřebenatky	f37/ f290/ f207/ f338	
67	Bourec morušový, larva	-	
68	Vepřové maso	f26	
69	Hovězí maso	f27	
70	Kuřecí maso	f83	
71	Jehněčí maso	f88	
72	Sýr čedarového typu	f81	
73	Ječmen	f6	Maso
74	Rýže	f9	
75	Pohanka	f11	
76	Kvasnice pekařské	f45	
77	Kukuřice	f8	
78	Mrkev	f31	
79	Brambora	f35	
80	Česnek / Cibule	f47/ f48	
81	Celer	f85	
82	Okurka	f244	
83	Rajče	f25	
84	Pomeranč	f33	
85	Jahoda	f44	
86	Kiwi/ Mango/ Banán	f84/ f91/ f92	
87	Kaštan sladký	f299	
88	Vlašský ořech	f256	
89	Liskový ořech	f17	
90	Mandle / Piniový ořech/ Slunečnicové semínko	f20/ f253/ k84	
91	Kakao	f93	
			Ostatní

(1) Čísla linií jsou zobrazena na obrázku níže.

(2) Zdroj extraktu alergenů

