

# IMTEC-Gastro-LIA

## Gastro-LIA

### Lineární imunoanalýza (LIA) pro detekci protilátek u gastrointestinálních onemocnění (IgA a IgG)

#### (d-Gliadin, tTG, Mannan, PCA, IF)

Velikost balení		
[REF]	ITC30701	24 Testů Kompletní balení
[IVD]		

Před testováním si pečlivě přečtěte návod k použití

#### Zamýšlené použití

IMTEC-Gastro-LIA je nepřímá membránová enzymová imunoanalýza pro kvalitativní stanovení protilátek třídy IgA a IgG proti deamidovanému gliadinu (d-gliadin, DGP), tkáňové transglutamináze (tTG), mananu (ASCA), antigenu parietálních buněk (PCA) a vnitřnímu faktoru (IF) v lidském séru nebo plazmě. Test je určen pouze pro diagnostické použití in vitro jako pomůcka při diagnostice celiakie, perniciozní anémie a zánětlivých onemocnění střev.

Celiakie a dermatitis herpetiformis (Duhringova choroba), které se často vyskytují v souvislosti s gluten senzitivní enteropatií, jsou sérologicky charakterizovány výskytem IgA protilátek proti endo-mysiální pojivové tkáni. Tento typ enteropatie se nazývá celiakie a typicky se projevuje během několika prvních let života, ale někdy také v dospělosti. Inkompatibilita s lepem vede k chronické trávicí insuficienci, která je doprovázena poškozením střevní sliznice a dalšími symptomatickými změnami a potíženími.

Tkáňová transglutamináza (tTG) byla identifikována jako antigen protilátek proti endomyziálnímu lepku (EMA). Jako substrát tTG byl mimo jiné popsán pšeničný protein gliadin, který je součástí lepku. Přibližně 10 % pacientů s celiakií má deficit IgA, proto by při podezření na tento deficit mělo být sérum vyšetřeno také konjugátem IgG.

Titř protilátek přísně koreluje s aktivitou onemocnění, ale po zahájení bezlepkové diety klesá. Po jednom až dvanácti měsících již obvykle nelze protilátky proti tTG detekovat.

Charakteristickým znakem onemocnění je kromě výskytu protilátek proti tTG také výskyt protilátek proti gliadinu IgG a/nebo IgA. V případě celiakie se tyto protilátky vyskytují izolovaně nebo ve spojení s tTG-protilátkami, a jsou proto důležité pro diagnostiku a posouzení jejího průběhu. Přítomnost anti-d-gliadinových protilátek IgA je specifická pro celiakii, zatímco protilátky typu IgG se mohou vyskytovat i u jiných onemocnění (Crohnova choroba: 40-50 %, ulcerózní kolitida: 10-20 %).

Protilátky proti Sacharomyces cerevisiae (ASCA, antigen: mannosofopeptid, mannan) jsou autoprottilátky, které se vyskytují u Crohnovy choroby, chronického zánětlivého střevního onemocnění.

ASCA mají vysokou specifitu (97 %) a pozitivní prediktivní hodnotu (96 %) pro Crohnovu chorobu, zejména pokud jsou hodnoceny v kombinaci s negativním výsledkem testu pANCA.

Protilátky proti antigenům parietálních buněk (PCA) byly poprvé popsány u pacientů s perniciozní anémií (Addisonovou anémií) a vyskytují se také u pacientů s autoimunitními endokrinními onemocněními štítné žlázy, jako je Hashimotova tyreoiditida a diabetes mellitus typu I (20-30 %), a také u chronické atrofické gastritidy typu A.

Protilátky anti-IF se vyskytují především u pacientů s perniciozní anémií (Addisonova anémie, anémie z nedostatku vitamínu B12). Nejčastěji jsou postiženi jedinci starší 60 let. Tyto protilátky jsou také zjišťovány u pacientů s chronickou atrofickou gastritidou typu A (riziko vzniku perniciozní anémie) a autoimunitními onemocněními štítné žlázy.

#### Princip použití

Test je založen na principu liniové imunoanalýzy (LIA). Antigeny se nanášejí jako linie na nitrocelulózovou membránu:

antigeny	Identita
d-Gliadin	rekombinantní
tTG	Rekombinantní
ASCA	původní
PCA	Rekombinantní
IF	Rekombinantní

Nitrocelulózová membrána je blokována, aby se zabránilo nespecifickým reakcím. Během inkubace proužku se zředěnými vzorky pacientů se autoprottilátky přítomné ve vzorku naváží na antigen(y) na proužku. K detekci navázaných protilátek se používá sekundární protilátka proti lidskému IgG/IgA značená křenovou peroxidázou (HRP). Po přidání substrátu a stop roztoku znamená výskyt hnědých čar existenci (auto)protilátek proti příslušnému antigenu.

#### Obsah balení

[STRIP]	24	Testovací proužky (černé barevné označení) potažené antigenem (viz tabulka), připravené k použití
[DILxLIA]	30ml	Ředící pufr (modrý uzávěr), připravený k použití
DB02		
[WASH][20x] WB03	50 ml	Promývací pufr (černý uzávěr) koncentrát (20x) pro 1 l pufru
[CON][A]	29 ml	Roztok konjugátu (zelený uzávěr) konjugát HRP proti lidskému IgA, připravený k použití
[CON][G]	29 ml	Roztok konjugátu (bílý uzávěr) konjugát HRP proti lidskému IgG, připravený k použití
[SUBxLIA]	30 ml	Roztok substrátu (černý uzávěr) připraveno k použití bezbarvý až namodralý
[STOP[LIA]	30 ml	Stop roztok (červený uzávěr) kyselina sírová, připravená k použití
	2 pcs.	Inkubační zásobník
	1 pc.	Bodovací list, pinzeta, lepicí list, průhledná šablona pro hodnocení
	each	

#### Bezpečnostní poznámky

Reagencie nepolykejte. Zabraňte kontaktu s očima, kůží a sliznicemi. Se všemi vzorky od pacientů je třeba zacházet jako s potenciálně infekčními. Používejte ochranný oděv a jednorázové rukavice v souladu se správnou laboratorní praxí.

Všechny materiály kontaminované vzorky pacientů by měly být inaktivovány validovanými postupy (autoklávování nebo chemické ošetření) v souladu s platnými předpisy.

#### Stabilita

Při skladování při teplotě 2...8 °C jsou neotevřené lahvičky stabilní až do data použitelnosti.

[WASH] (po rekonstituci) a otevřené reagencie jsou stabilní po dobu 6 týdnů při teplotě 2...8°C.

Uchovávejte přípravek [SUBxLIA] chráněný před světlem.

#### Bezpečnostní opatření

[DILxLIA] DB02, [WASH][20x] WB03 a [SUBxLIA] mohou být zaměněny mezi šaržemi a testovacími soupravami LIA, které mají stejné označení činidla.

Všechna ostatní činidla jsou specifická pro jednotlivé šarže testovacích souprav a nesmí se zaměňovat s jinými šaržemi a testovacími soupravami.

Pro manipulaci s [CON] nepoužívejte polystyrenové nádoby.

Jakákoli krystalická sůl [WASH][20x] uvnitř lahvičky musí být před použitím rozpuštěna.

Během inkubace nevysušujte [STRIP].

Nedotýkejte se [STRIP] prsty, používejte pinzetu.

Po inkubaci přípravku [STRIP] zředěné vzorky zcela odstraňte, aby nedošlo ke křížové kontaminaci.

Během všech inkubačních kroků používejte houpací třepačku.

#### Vzorek, kontroly

Sérum a plazma s antikoagulanty citrátem nebo EDTA.

Nepoužívejte vysoce lipemické, hemolyzované nebo ikterické vzorky.

Neředěné vzorky lze skladovat po dobu 5 dnů při teplotě 2...8 °C nebo po dobu jednoho roku při -20 °C. Zmrazte a rozmrazte pouze jednou. Rozmražený vzorek by měl být pečlivě homogenizován. Odstraňte pevné částice odstředěním nebo filtrací.

#### Příprava činidla

Před použitím uveďte všechna činidla na pokojovou teplotu (15...25 °C).

Nepoužívaná činidla by měla být vždy skladována při teplotě 2...8°C.

#### Roztok promývacího pufru [WASH]

Zředte 1 díl [WASH][20x] s 19 díly destilované vody.

## Postup

### Postup mytí

Postup mytí je velmi důležitý. Nedostatečné promytí má za následek špatnou přesnost nebo falešně vysokou intenzitu pásů.

W1: Úplně odstraňte kapaliny.

W2: Přidejte [WASH] a inkubujte 5 minut za mírného míchání.

W3: Po promytí odstraňte zbývající kapalinu.

### Schéma pipetování

Postupujte přesně podle popisu. Zvláštní pozornost věnujte postupu mytí!	
Reagencie a vzorky by měly mít před použitím pokojovou teplotu.	
<b>Příprava vzorku:</b>	
DIL[LIA] DB02: Vzorek naředěte v poměru 1:101. (10 µl séra + 1 ml [DIL[LIA]]) Pro každou jamku je potřeba 1 ml.	
<b>1. krok</b>	<b>Well [ml]</b>
Vložte [STRIP] do inkubační misky barevným kódem nahoru.	--
[WASH] pro navlhčení membrány	1
Inkubujte 1 minutu při pokojové teplotě	
Odstraňte [WASH]	
<b>2. krok</b>	
<b>Zředěné vzorky</b>	1
Inkubujte 30 minut při pokojové teplotě	
Třikrát vyperte podle popisu (viz W1 - W3).	
[WASH]	1
<b>3. krok</b>	
[CON][A] or [CON][G]	1
Inkubujte 30 minut při pokojové teplotě	
Třikrát vyperte podle popisu (viz W1 - W3).	
[WASH]	1
<b>4. krok</b>	
[SUB[LIA]	1
Inkubujte 10 minut při pokojové teplotě	
Odstraňte [SUB[LIA]	
<b>Step 5</b>	
Přidejte destilovanou vodu	1
Inkubujte 1 minutu při pokojové teplotě	
Odstranění destilované vody	
[STOP[LIA]	1
Inkubujte 5 minut při pokojové teplotě	
Odstranění [STOP[LIA]	
Důkladně vysušte [STRIP]	

### Automatizace

IMTEC-Gastro-LIA lze zpracovávat pomocí vhodných automatických analyzátorů Blot. Aplikace musí být před diagnostickým použitím validovány. Pro automatizovanou interpretaci výsledků doporučujeme použít HumaScan.

### Ověřování testů

Výsledky testu jsou platné, pokud jsou pro každý [STRIP] splněna následující kritéria:

- Funkce ovládání je viditelná.

- Je viditelná kontrola vypnutí.

- Ovládání funkce intenzity > ovládání vypnutí intenzity

### Interpretace výsledků

Přípevněte [STRIP] na skórovací list a srovnajte referenční čáru [STRIP] s referenční čarou na skórovacím listu.

Zarovnejte přerušovanou referenční čáru hodnotící šablony s referenční čarou [STRIP].

Interpretace výsledků testu se provádí výhradně na základě příslušné hraniční kontroly považované pro každý [STRIP]:

Výsledek testu je negativní, pokud není rozpoznán žádný pás nebo pokud pás vykazuje menší intenzitu ve srovnání s hraniční kontrolou.

Test je nejednoznačný, pokud se intenzita pásu a intenzita hraniční kontroly významně neliší.

Výsledek testu je pozitivní, pokud pás vykazuje silnější zbarvení ve srovnání s hraniční kontrolou.

Zaznamenejte příslušné výsledky testu do bodovacího archu.

### Omezení

Positivní výsledek musí být použit ve spojení s klinickým hodnocením a diagnostickými postupy. Hodnoty získané tímto testem jsou určeny pouze jako pomůcka pro diagnostiku.

Intenzita zbarvení pásu nemusí nutně korelovat s titry protilátek získanými jinými referenčními metodikami. Vzorky od zdánlivě normálních dárců krve mohou obsahovat autoprottilátky.

Pokud vzorek pacienta obsahuje zvýšené hladiny imunokomplexů nebo jiných imunoglobulinových agregátů, nelze vyloučit falešně pozitivní výsledky způsobené nespecifickou vazbou.

### Výkonnostní charakteristiky

Typické výkonnostní údaje naleznete v ověřovací zprávě, která je přístupná prostřednictvím:

[www.human.de/data/gb/vr/la-30701.pdf](http://www.human.de/data/gb/vr/la-30701.pdf) nebo

[www.human-de.com/data/gb/vr/la-30701.pdf](http://www.human-de.com/data/gb/vr/la-30701.pdf)

Pokud nejsou výkonnostní údaje přístupné přes internet, lze je bezplatně získat u místního distributora.

### Poznámka

Manipulace by měla být vždy v souladu s běžnými požadavky SLP (\*)! Musí být splněna validační kritéria!

(\*To zahrnuje: Odstraňte ze zásobních roztoků pouze činnidla potřebná pro běh, pokud by mohla přijít do styku s jinými kontaminujícími roztoky, jako jsou vzorky pacientů apod. / Zásobní roztoky se vždy vrátí na teplotu 2...8 °C, pokud se nepoužívají.)

### Barevné kódování

**Barevné označení připojené nad odkazem slouží k identifikaci dostupných zkoušek IMTEC-LIA:**

colour coding	IMTEC-LIA test
Žlutá	ANA-LIA
Oranžová	ANA-LIA-Maxx
Modrá	Myositis-LIA
Hnědá	Liver-LIA S
Fialová	Vasculitis-LIA
Černá	Gastro-LIA

### Bezpečnostní poznámky

[STOP] Varování!

- Výstražné věty

H315 Způsobuje podráždění kůže.

H319 Způsobuje vážné podráždění očí.

[CON]

H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.

H412 Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.

[WASH][20x], [DIL][LIA]

H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.

[WASH][20x] [DIL][LIA] [CON][A] [CON][G] [SUB][LIA] [STOP][LIA].

- Preventivní prohlášení

P280 Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranu očí/ochranu obličejů.

P305+P351+P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Opatrně několik minut vyplachujte vodou.

Vyjměte kontaktní čočky, pokud jsou přítomny a lze je snadno vyjmout.

Pokračujte ve vyplachování.

P321 Specifické ošetření (viz na této etiketě).

P362 Před opětovným použitím svlékněte kontaminovaný oděv a vyperte jej.

P332+P313 Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/opatření.

### Reference

1. Conrad K. et al., Autoantibodies in Systemic Autoimmune Diseases - A Diagnostic Reference; Pabst Science Publishers, Lengerich, Berlin, Riga, Rom, Viernheim, Wien, Zagreb, 2008.

2. Olen O. a kol, Protilátky proti deaminovaným gliadinovým peptidům a tkáňové transglutamináze pro diagnostiku dětské celiakie, JPGN 55:6, 695-700, 2012.

3. Schwertz E. et al., Sérologický test založený na gliadinu příbuzných nonapeptidů jako vysoce citlivá a specifická diagnostická pomůcka u celiakie, Clinical Chemistry 50:12, 2370-2375, 2004.LA-30701 INF

ITC30701 GB

09-2023-019

IMTEC

HUMAN