

# HITACHI

Hitachi Chemical Diagnostics, Inc.

## PŘÍBALOVÝ NÁVOD K POUŽITÍ SOUPRAVY OPTIGEN™ ASSAY

### OPTIGEN Allergen-Specific IgE Assay

Souprava je určena pouze k diagnostickému použití *in vitro*.



dokument číslo: 0649  
revize:  
datum revize:

#### **1** Použití testu

Souprava OPTIGEN Assay je *in vitro* test k semikvantitativnímu stanovení koncentrací cirkulujících alergen-specifických protilátek IgE v lidském séru.

#### **2** Úvod a význam testu

Imunoglobulin E představuje výraznou třídu sérových protilátek, které zprostředkovávají hypersenzitivní reakce Typu 1, známé také pod názvem atopické alergie. Pokud jsou imunokompetentní B lymfocyty stimulovány vystavením působnosti antigenů (alergenů) mohou produkovat alergen-specifické IgE protilátky, které vážou receptory žírných buněk a na bazofilní leukocyty.

Pokud je stejný antigen zavedený do systému inhalací, potravou nebo kožním kontaktem, váže se na protilátky IgE, navázané na buňku. To pak spustí buněčnou degranulaci s uvolněním vazoaktivních aminů do okolních tkání. Vazoaktivní aminy, jako je histamin jsou odpovědné za kontrakci bronchiálních hladkých svalů, kožního svědění, lokálních otoků, prosakování extracelulárních tekutin přes slizniční bariéry, což je charakteristické pro hypersenzitivní reakce Typu 1.

Nejobecnější klinické manifestace hypersenzitivních reakcí Typu 1 zahrnují sinusitidu, astma, dermatitidy, kopřivku a ve vzácných případech anafylaktický šok.

Určení hladiny alergen-specifických protilátek IgE v séru pacienta v souvislosti s klinickým vyhodnocením, založeným na pacientových problémech v minulosti a na následném testování může lékaři pomoci potvrdit diagnózu atopické alergie a také hrát roli při léčení pacienta.

#### **3** Princip testu

OPTIGEN test používá malé plastické zařízení pojmenované jako „PETTE“ na vyšetření séra pacienta na jednotlivý počet alergenů či rekombinantních alergenů. Jednotka pette obsahuje polystyrenovou pevnou fázi s jednotlivými odděleními komůrkami a rovněž negativní kontrolu k blankování a jednu pozitivní kontrolu ke kontrole provedení testu.

Po prvním promývacím kroku se OPTIGEN test zahajuje naplněním systému jednotky sérem pacienta. Při následující inkubaci séra se IgE ze séra váže na alergeny, navázané v jednotlivých jamkách. Po inkubaci se zařízení Pette promyje promývacím pufrém, kterým se zároveň odstraní nenavázané složky séra.

V další fázi se do pette natáhne reagentie- enzymem značená protilátka anti-IgE. Tato protilátka se váže na IgE, vázané na stěny jamek spolu s alergenem.

Po druhém promytí se pette naplní fotoreagentní směsí, která v kombinaci s protilátkou anti-IgE, značenou enzymem vydává chemicky utvořené světlo (nebo-li chemoluminiscence). Množství emitovaného světla v každé jamce je přímo úměrné množství alergen-specifických protilátek IgE v séru pacienta.

## 4 Reagenty / Komponenty soupravy

### Souprava OPTIGEN Assay

Až do expirace skladujte při 2 – 8°C. Nesmí zmraznout.

#### Složení a popis soupravy

#### Pro soupravu 20 testů

<b>Pette – testovací komůrky (Test Chambers)</b>	20 ks
Testovací komůrky pette obsahují polystyrenovou pevnou fázi a integrované čočky, každým komůrka obs. alergen nebo se směs alergenů.	
<b>Koncentrovaný promývací pufr (Wash Buffer Concentrate)</b>	1 lahvička, 50 ml
Po naředění roztok obsahuje 0,01 M roztok chloridu sodného, pufovaného fosfátem, 0,1 % Tween 20 a 0,001% azid sodný jako konzervační prostředek	
<b>Reagent protilátky (Antibody Reagent)</b>	1 lahvička, 16 ml
Obsahuje modře zbarvený roztok enzymem značené kozí anti-lidské protilátky IgE, 0,01 M chlorid sodný, pufovaný fosfátem pH 7,2, stabilizátor proteinů a 0,1% Proclin <sup>4</sup> jako konzervační prostředek.	
<b>Fotoreagent AB (Photoreagent AB)</b>	1 lahvička, 8 ml
Roztok obsahuje 7-15 mM 3-aminoftalhydrazid (luminol), 5-25 uM zvýrazňovač (enhancer) a 0,05M borátový pufr, pH 9,4	
<b>Fotoreagent CD (Photoreagent CD)</b>	1 lahvička, 8 ml
Roztok obsahuje 0,00125 M etyloranž a 0,0002 M peroxid vodíku	
<b>Horní uzávěr jednotky pette (Pette Plugs, top)</b>	22 uzávěrů
Černé uzávěry k uzavření horní části pette	
<b>Dolní uzávěr jednotky pette (Pette Plugs, bottom)</b>	22 uzávěrů
Bílé uzávěry k uzavření spodní části pette	

## 5 Důležitá upozornění

- Souprava OPTIGEN Assay je určena pouze k diagnostickému použití *in vitro*.
- Koncentrovaný promývací pufr obsahuje jako konzervační látku azid sodný. Je známo, že azid sodný reaguje s olovem a mědí za tvorby potencionálně výbušných kovových azidů. Proto je při odstraňování zbytků do výlevky nutné spláchnout větším množstvím vody a tím předejít tvorbě kovových azidů ve výlevce.
- Nepoužívejte komponenty soupravy po uplynutí expirační doby. Datum expirace je vytištěno na každé komponentě.
- Všechny složky soupravy (reagenty a jednotky pette) jsou dodávány jako shodná souprava. Nekombinujte je se soupravami jiných výrobních šarží, protože nejsou kompatibilní.
- .....

## 6 Příprava reagensí

### Promývací pufr

- Koncentrovaný promývací pufr nechte vytemperovat na laboratorní teplotu. Zkontrolujte, zda-li se rozpustily všechny krystalky solí, které se mohou vytvořit při skladování v chladničce. Pokud krystalky v lahvičce přetrvávají, umístěte pevně uzavřenou lahvičku částečně do teplé vody a ponechte ji zde až do rozpuštění krystalků.
- Dávkovač promývacího pufru a příslušné hadičky promyjte destilovanou vodou.
- Lahvičku s koncentrovaným promývacím pufrům opakovaně převracejte, aby se roztok promíchal.
- Obsah nádoby (50 ml) kvantitativně přeneste do 2 l nádoby dávkovače na promývací pufr.
- Destilovanou nebo deionizovanou vodou doplňte po značku 1 litru.
- Důkladně promíchejte.
- Připravený pracovní roztok promývacího pufru je možné použít do 1 měsíce od přípravy, pokud je skladován při laboratorní teplotě nebo v chladničce (2-8°C).

### Reagent protilátky

- Před použitím ponechte reagenty vytemperovat na laboratorní teplotu.
- Před použitím jemně promíchejte.
- Reagenty je možné používat až do data expirace, je-li skladován v chladničce při 2-8°C, pokud se přímo nepoužívá.
- Jedna nádobka s reagentem protilátky stačí k provedení 20 souborů OPTIGEN pette.

### Fotoreagentní směs

#### Fotoreagentní směs připravte přímo před jejím použitím.

- Před přípravou směsi ponechte fotoreagenty AB a CD vytemperovat na laboratorní teplotu.
- Za použití mikropipety a jednorázových špiček **smíchejte stejný díl** fotoreagentu AB a fotoreagentu CD. Pro jednu testovací jednotku pette odeberte z každé lahvičky 250 ul fotoreagentu AB a CD. Přeneste tato množství do vhodné jednorázové nádoby. **POZNÁMKA: Pro každou komponentu fotoreagentu použijte vždy čistou špičku na jednorázové použití, aby se zabránilo kontaminaci reagentů.**
- Obsah nádoby jemně promíchejte. **POZNÁMKA: K získání nejlepších výsledků je třeba, aby se fotoreagentní směs použila okamžitě po její přípravě.**

## 7 Skladování

- Komponenty soupravy skladujte při 2-8°C. Při doporučeném skladování lze komponenty soupravy používat až do data expirace, uvedené na štítku každé komponenty.
- Nezamrazujte komponenty soupravy.
- Jednotky pette jsou uzavřeny spolu se sušidlem a při odběru ze sáčku je nutné jejich okamžité dokonalé přebalení. Pokud jsou skladovány v těsně uzavřeném sáčku a pokud jsou uchovávány v chladničce při 2-8°C, jsou stabilní až do data expirace, které je uvedené na štítku balení.
- Nepoužívejte komponenty soupravy pokud jsou přítomné známky jejich poškození. Poškození se projevuje neobvyklým zápachem, objevením zákalu a dalších známek kontaminace.

## 8 Odběr vzorku a jeho příprava

Se všemi vzorky od pacientů a s používanými komponentami zacházejte podle doporučení pro potenciálně infekční materiál (lidské sérum nebo vzorky krve). Dodržujte všeobecné bezpečnostní zásady nebo vlastní laboratorní pokyny pro zacházení se vzorky od pacientů.<sup>2-4</sup>

Minimální objem lidského séra, potřebný k provedení jednotlivého testu na jednotce PET:

500 µl k provedení na jednotce PET pro 36 antigenů

300 µl k provedení na jednotce PET pro 20 antigenů

Při testování soupravou OPTIGEN na přítomnost alergie se musí dodržovat následující pokyny k odběru, přípravě a ke skladování séra:

1. Vzorek venózní krve odeberte do separační zkumavky na 5 ml nebo do jiné vhodné krevní zkumavky s červeným uzávěrem. Pacient nemusí být na lačno. Speciální příprava pacienta není potřebná. **POZNÁMKA: Sérové separační zkumavky (SST) obsahují inertní materiál, který při centrifugaci odděluje sérum od krvinek. Hemolýza může nepříznivě ovlivnit provedení testu na alergii OPTIGEN.**
2. Odběrovou zkumavku 3-5 x jemně převratte.
3. Zkumavku označte jménem pacienta a datem odběru.
4. V originální uzavřené odběrové zkumavce ponechte krev koagulovat po dobu do 2 hodin při laboratorní teplotě nebo do objevení zřetelných známek koagulace.
5. Srážlivou krev centrifugujte v originální uzavřené odběrové zkumavce po dobu 10-20 minut při 2000-3000 g nebo při 2500-3600 ot/min.
6. Sérum z centrifugační zkumavky odeberte a přeneste do vhodné, značené a čisté plastové skladovací zkumavky
7. Vzorek séra lze skladovat při teplotě 2-8°C po dobu 1 týdne. Pro delší skladování je třeba vzorek zmrazit a uchovávat při -20°C.

**POZNÁMKA: Opakované zmrazení a rozmrazení vzorků je třeba vyloučit. Zamražené vzorky, které byly rozmrazeny se před centrifugací musí důkladně promíchat. Při odebrání vzorků ze skladování, těsně před provedením testu se vzorky sér musí recentrifugovat po dobu 10-20 minut při 2000-3000 g nebo při 2500-3600 ot/min.**

## 9 Provedení testu

K detailním instrukcím k provedení testu odkazujeme na kapitulu Technické záležitosti/Uživatelská příručka a na prováděcí manuál.

### Materiál dodaný v soupravě

- Viz kapitola 4 (Reagenty/Komponenty soupravy)

### Další potřebný materiál, který není součástí soupravy

Souprava CLA Equipment obsahující:

- pracovní stojan, který fixuje až 40 testovacích komůrek
- pracovní stojanový rezervoár
- láhev k dávkování promývacího pufru, kalibrována na 2 litry
- reagentní jednorázové nádobky na 10 ml
- Luerovy injekční stříkačky na 3 cc (Luer Lock syringe)
- elektronické nebo manuální pipety s nastavitelným objemem (možnost volby)
- kalibrováný odměrný válec nebo láhev na 1 litr k přípravě promývacího pufru
- deionizovaná nebo destilovaná voda
- sérové separační zkumavky nebo zkumavky s červeným uzávěrem k odběru vzorku 5 ml nebo 10 ml
- vhodná centrifuga pro 2000-3000 x g nebo 2500-3600 ot/min
- čisté plastové zkumavky ke skladování a k přípravě vzorků
- absorpční papírové ubrousky
- čisté otírací čtverečky (bez volných vláken)
- odečítací luminometr (CLA-1 Luminometer System)

### Příprava testovacích jednotek pette a příprava vzorků od pacientů

1. Vzorky sér bezprostředně před použitím centrifugujte (viz kapitola 8 Odběr vzorku a jeho příprava).
2. Vyberte jednotku pette z ochranného sáčku (pro každého pacienta 1 ks).
3. Sáček dokonale uzavřete a zbývající jednotky vraťte do chladničky.
4. Otočte jednotku okénky dolů a na příslušném okraji označte identifikaci pacienta.  
**POZNÁMKA: Pokud není souprava v přímém použití, skladujte ji při 2-8°C.**

## PRACOVNÍ POSTUP

### A. Připravte pracovní promývací pufr (podle instrukcí v kapitole 6 Příprava reagentů)

### B. Rehydratace testovacích jednotek pette

1. Připravte (propláchněte) dávkovač na promývací pufr s odvodem do výlevky nebo do odpadní nádoby tak, aby v systému nezůstaly bublinky vzduchu.
2. Konec uzavíracího kohoutku připojte k příslušnému konci první jednotky pette.
3. Každou jednotku pette promyjte jedenkrát pomocí 10 ml promývacího pufru stlačením pumpy dávkovače 1 x (požijte přiměřeně mírný tlak).

**POZNÁMKA: Před provedením dalšího pracovního kroku ponechejte každou jednotku pette úplně oschnout.**

### C. Dávkování séra do jednotky pette

1. Zabalte jednotku pette do absorpčního papíru tak, aby se zbývající tekutina odsála.
2. K vrchnímu konci jednotky pette připojte 3 cc injekční stříkačku.
3. Spodní část jednotky pette vložte do nádoby se sérem pacienta.  
**POZNÁMKA: Sérum nesmí obsahovat precipitáty a/nebo lipidovou vrstvu.**
4. **POMALU**, pomocí pístu inj. stříkačky odeberte (nasajte) do jednotky pette sérum, dokud se nezaplní horní okénko. **Zkontrolujte nepřítomnost bublinek.**

**POZNÁMKA: Ujistěte se, zda-li je horní okénko pro pozitivní kontrolu rovněž zaplněné.**

### D. Uzavření jednotky pette a její inkubace

1. Injekční stříkačku ponechte připojenou na konci jednotky a na druhý konec jednotky (spodní) nasadte bílý uzávěr.
2. Odstraňte inj. stříkačku a na tento konec jednotky nasadte černý uzávěr.  
**POZNÁMKA: Uzávěry musí dokonale těsnit tak, aby tekutina nevytékala nebo neprosakovala.**
3. Sérem naplněnou jednotku postavte kolmo do pracovního stojanu.
4. Inkubujte 2 hodiny při laboratorní teplotě.

### E. Uvolnění séra z jednotky pette

1. Z každé jednotky pette odstraňte spodní uzávěr a jednotky umístěte zpět do stojanu.
2. Z každé jednotky pette odstraňte horní uzávěr a sérum ponechejte vytéct do odpadní nádoby.
3. Osušte uzávěry a ponechejte je pro další použití.

### F. Promývání jednotek pette

1. Přesvědčte se, zda-li jsou z dávkovače promývacího pufru odstraněny všechny bublinky.
2. Konec hadičky s uzavíracím ventilem připojte k hornímu konci jednotky pette.
3. Každou jednotku promyjte pomocí 10 ml promývacího pufru stlačením pumpy dávkovače 1 x (použijte přiměřeně mírný tlak).  
**POZNÁMKA: Před dalším pracovním krokem ponechejte každou jednotku pette dokonale okapat (zbavit tekutiny).**

### G. Plnění jednotek pette reagentem protilátky

1. Před použitím ponechejte reagent vytemperovat na laboratorní teplotu.
2. Před použitím reagent v lahvičce mírně promíchejte.
3. Reagent protilátky chraňte před kontaminací. Požadované množství reagentu přeneste do nádoby na jednorázové použití nebo do jiné vhodné nádoby.
4. Spodní část jednotky pette jemně osušte pomocí absorpčního papíru tak, aby se odsály zbytky promývacího pufru.
5. K horní části jednotky pette připojte 3 cc inj. stříkačku.
6. Spodní část jednotky pette vložte do jednorázové nádoby s odděleným množstvím reagentu protilátky.
7. Pomalu, pomocí pístu inj. stříkačky odeberte (nasajte) do jednotky pette reagent protilátky, dokud se nezaplní horní okénko.

**POZNÁMKA: Zkontrolujte, zda-li je horní okénko reagentem protilátky zcela zaplněné. Zabrání se tak tvorbě vzduchových bublinek, které by mohly v testu interferovat.**

#### **H. Uzavření a inkubace jednotek pette**

1. Injekční stříkačku ponechejte připojenou na konci jednotky a na druhý konec jednotky (spodní) nasadte bílý uzávěr.
2. Odstraňte inj. stříkačku a na tento konec jednotky nasadte černý uzávěr.
3. Jednotku naplněnou reagentem protilátky postavte kolmo do pracovního stojanu. Inkubujte **2 hodiny** při laboratorní teplotě. Nastavte měření doby inkubace.

**POZNÁMKA: Pokud není souprava v přímém použití, skladujte ji při 2-8°C.**

#### **I. Uvolnění reagentu protilátky z jednotky pette**

1. Z každé jednotky pette odstraňte spodní uzávěr a jednotky umístěte zpět do stojanu.
2. Z každé jednotky pette odstraňte horní uzávěr a reagent ponechejte vytéct do odpadní nádoby. **POZNÁMKA: Nezapomeňte zastavit na řídicím panelu inkubační dobu.**
3. Osušte uzávěry a ponechejte je pro další použití.

#### **J. Promývání jednotek pette**

1. Stlačte dávkovač promývacího pufru a 1 dávku odpusťte do výlevky nebo do odpadní nádoby tak, aby se ze systému dávkovače odstranily všechny bublinky.
2. Konec hadičky s uzavíracím ventilem připojte k hornímu konci jednotky pette.
3. Každou jednotku promyjte pomocí 10 ml promývacího pufru stlačením pumpy dávkovače 1 x (použijte přiměřeně mírný tlak).

**POZNÁMKA: Před dalším pracovním krokem ponechejte každou jednotku pette dokonale okapat (vysušit).**

#### **K. Příprava fotoreagentní směsi**

1. Fotoreagentní směs připravte podle instrukcí v kapitole 6 (Příprava reagentů).  
**POZNÁMKA: Před použitím ponechejte obě složky reagentu vytemperovat na laboratorní teplotu.**  
**POZNÁMKA: K získání nejlepších výsledků je třeba, aby byla fotoreagentní směs připravena bezprostředně před použitím.**

#### **L. Plnění jednotek pette fotoreagentní směsí**

1. Spodní část jednotky pette pomocí absorpčního papíru jemně osušte tak, aby se odsály zbytky promývacího pufru.
2. K horní části jednotky pette připojte 3 cc inj. stříkačku.
3. Spodní část jednotky pette vložte do nádoby s fotoreagentní směsí.
4. **Pomalů,** pomocí pístu inj. stříkačky odeberte (nasajte) do jednotky pette fotoreagentní směs, dokud se jednotka úplně nezaplňuje.

**POZNÁMKA: Zkontrolujte zda-li je horní okénko zcela zaplněné fotoreagentní směsí.**

#### **M. Uzavření a inkubace jednotek pette**

1. Injekční stříkačku ponechejte připojenou na konci jednotky a na druhý konec jednotky (spodní) nasadte bílý uzávěr.
2. Odstraňte inj. stříkačku a na tento konec jednotky nasadte černý uzávěr.
3. Zkontrolujte, zda-li z jednotky nevytéká její obsah.
4. Konce jednotky osušte od veškerých zbytků fotoreagentní směsi pomocí čistého vlhkého tamponu, který neuvolňuje žádná vlákna.

#### **N. Naplněné jednotky pette ponechejte stát po dobu 10 minut.**

1. Po naplnění první jednotky fotoreagentní směsí nastavte čas na 10 minut a postupně naplňujte další jednotky. Ponechejte je stát, dokud měřič času neohlásí dobu 10 minut.
2. V další fázi odkazujeme na příslušné instrukce v manuálu pro Luminometr, kapitola Odečítání výsledků.

## O. Odečítání výsledků pomocí Luminometru CLA-1.

**POZNÁMKA: Za žádných okolností neotevírejte skříň Luminometru. Otevření může vést k poškození přístroje a k nutnému továrnímu seřízení a navíc vystavuje operátora vážnému zranění.**

1. Vkládání jednotky pette do příslušného kazetového nosiče.
  - a. Jednotku pette vložte do příslušné kazety podle instrukcí manuálu k CLA-1 Luminometru.
  - b. Zasuňte jednotku pette černým uzávěrem (prvním okénkem) čelně, po celé její délce ke konci kazetového nosiče.
  - c. Zkontrolujte, zda-li z jednotky nevytéká její obsah. Veškeré zbytky fotoreagentní směsi otřete pomocí čistého vlhkého tamponu, který neuvolňuje žádná vlákna.
2. Zasunutí kazety s jednotkami pette do luminometru.
  - a. Stiskněte jednou klávesu „OPEN/CLOSE“ na panelu luminometru, čímž se otevře transportní dráha.
  - b. Uchopte držadlo kazety pro jednotky pette a připravený nosič vložte do kazetového transportního otvoru, tak aby tam vklouzl. ??
  - c. Stiskněte opět klávesu „OPEN/CLOSE“. V této chvíli bude kazeta automaticky dopravena dovnitř luminometru a transportní dvéře se uzavřou.
3. Program nastavení seznamu do Luminometru
  - a. Identifikujte naplněný panel s pěti pozicemi jednotek pette, za použití příručky plánovacího archu (Luminometer Planner sheet).
  - b. Stiskněte klávesu „UP“ nebo „DOWN“ na panelu přístroje, aby projel přes panelovou nabídku.???
  - c. Pokud se zobrazí vhodná nabídka (výběr) ze seznamu kazetové pozice, stiskněte klávesu „ENTER“.
  - d. Výše uvedený krok opakujte dokud všechny nebudou všechny jednotky pette v přístroji naprogramovány.
4. Odečítání a vytištění výsledků
  - a. Po pěti naprogramovaných pozicích jednotek pette Luminometr zobrazí odpovídající seznam (LOAD LIST). Pokud seznam přesně odpovídá jednotkám pette v kazetě, stiskněte „ENTER“ a přístroj zahájí analýzu testů.
  - b. Výsledky testů přístroj vytiskne do 1 minuty.
  - c. K vytištěným testům dopište jména pacientů a výsledky přilepte na záznam testů pro Luminometr CLA-1.

## 10 **Kontrola kvality**

### A. Interní kontrolní jamky

Každá jednotka pette osahuje pozitivní kontrolu provedení a negativní kontrolu používanou jako blank. Tyto kontroly plní funkci vnitřních indikátorů pro každou jednotku pette.

**Pozitivní kontrola k provedení testu.** Vnitřní pozitivní kontrola ověřuje spolehlivost reagentů testu. Tato kontrola musí na CLA-1 Luminometru poskytnout výsledek vyšší nebo rovný 243 LU.

Negativní kontrola (blank). Tato negativní kontrola blanku kompenzuje jakékoliv nespecifické vazby IgE, které se mohou vyskytnout. Tato kontrola musí na CLA-1 Luminometru poskytnout výsledek stejný nebo nižší než 69 UL.

### Neakceptovatelné výsledky vnitřních kontrol

Pokud nejsou výsledky obou vnitřních kontrol v určeném výše uvedeném rozmezí, je třeba provést následující:

- Změňte pozici jednotky pette v kazetě pro jednotky (zkontrolujte, zda-li je jednotka pette správně usazena) a opakujte odečtení výsledků.
- Pokud ani potom nejsou výsledky akceptovatelné, odkazujeme na kapitoly 6 a 7.

### B. IgE pozitivní a negativní kontrolní séra

Hitachi Chemical Diagnostics doporučuje aby byla každá nová šarže soupravy reagentů a jednotek pette OPTIGEN Allergen-Specific IgE Assay testována se dvěma hladinami sérových kontrol: IgE pozitivním kontrolním sérem a IgE negativním kontrolním sérem. Některé pokyny mohou vyžadovat

použití čerstvější pozitivní a negativní kontrolní séra. V určitých detailech postupujte podle vnitřních pokynů laboratoře.

OPTIGEN IgE Pozitivní a Negativní kontrolní séra jsou dostupná ke koupi od fy Hitachi Chemical Diagnostics, Inc. (nebo od subdodavatele) a jsou dodávány s uvedenými hodnotami očekávaných výsledků. Kontrolní séra jsou dodávány ve zrazeném stavu a v tomto stavu musí být uchovávané až do jejich použití.

## 11 Výsledky

Luminometr CLA-I měří intenzity světla, emitované alergeny uvnitř jednotky pette. Luminometr měří světelnou emisi v luminiscenčních jednotkách (LUs). K výpočtu pacientovy reakce IgE přístroj automaticky odečítá od hladiny každého alergenu emisi negativní kontroly. Hodnoty poskytnuté přístrojem jsou klasifikovány pomocí čísel od 0 do 4, podle intenzity emitovaného světla jednotlivými alergeny na jednotce pette. Těmito hodnotami se v systému OPTIGEN Allergen-Specific IgE Assay CLA označují třídy alergie. Množství IgE, které souvisí s CLA klasifikací po odečtení výsledku na přístroji ukazuje následující tabulka.

Třída CLA	Rozmezí výsledku LUs	Hladina protilátek, detekovaných koncentrací alergen-specifických IgE
4	nad 242	velmi vysoká hladina protilátek
3	143 -242	vysoká hladina protilátek
2	66 – 142	střední hladina protilátek
1	27 – 65	nízká hladina protilátek
0	0 - 26	žádná detekce protilátek

Hodnoty třídy CLA 1 a vyšší představují progresivní zvýšení alergen-specifických protilátek. CLA třída 0 představuje nepřítomnost nebo nedetekovatelnost hladin alergen-specifických protilátek.

## 12 Omezení použitelnosti testu

- Hemolyzované nebo lipemické sérum může na provedení testu Optigen Assay působit nepříznivě.
- Definitivní klinická diagnóza a/nebo potřebný režim pro imunoterapii nesmí být nikdy založený na jediném diagnostickém testu a lékařem musí být hodnocený až po všech klinických a laboratorních nálezech.
- Test OPTIGEN poskytuje semikvantitativní výsledky. Metoda nemá žádný absolutní standard a pracovní se výsledky vyjadřují pomocí klasifikace třídami.
- Protože vazebná kapacita specifických protilátek IgE může kolísat od alergenu k alergenu, podobná klasifikace různých antigenů nutně neznamená naznačení klinické ekvivalence.
- Při testování potravinových alergií nemohou být detekovány cirkulující protilátky IgE, pokud jsou namířeny proti změněným formám alergenů (tj. vařením, zpracováním nebo trávením) a změněné formy nejsou prezentovány ve stejné formě jako ty potravinové alergeny, které jsou použité v tomto testu. Falešně pozitivní výsledky testu u osob, které jsou testovány na potravinové alergeny mohou vést k nevhodnému dietnímu omezování, zatímco falešně negativní výsledky u osob citlivých na potraviny mohou způsobit anafylaktické reakce různých závažností.
- Při testování inhalačních alergií mohou falešně pozitivní výsledky vést k nevhodnému medikamentóznímu léčení těchto osob. Falešně negativní výsledky testu mohou vést k nedostatečně vhodné lékařské terapii.
- Pokud jsou hodnoty celkového IgE vyšší než 500 IU/ml, musí být také nízké hladiny alergen-specifických IgE interpretovány v této souvislosti.
- Spolehlivé a reprodukovatelné výsledky se získají, pokud je postup testu prováděn v plné shodě s instrukcemi pracovního postupu k provedení testu a při dodržování doporučené správné kontroly kvality.
- Kontaminace mycími nebo čistícími prostředky v testu interferuje. Laboratorní zařízení, které bylo dekontaminováno oxidačními prostředky se musí důkladně propláchnout destilovanou nebo deionizovanou vodou.



**POZNÁMKA:** Použití prostředků na bázi alkoholu k desinfekci pracovních míst může způsobit popraskání plastů a selhávání testů.

## **13** Charakteristiky provedení testu pro standardní postup

### **A. Přesnost**

**Provedení testů v jedné sérii:** Se 4 vzorky séra bylo provedeno 10 testů. Průměrný variační koeficient při testování všech alergenů, vypočítaný z hodnot LUs, se pohyboval okolo 14%.

**Provedení testů v různých sériích:** 10 vzorků séra bylo testováno v pěti různých dnech. Průměrný variační koeficient při testování všech alergenů, vypočítaný z hodnot LUs, se pohyboval okolo 14%.

### **B. Detekční hranice<sup>5</sup>**

Detekční limit testu je 26 LUs.

### **C. Analytická specifita<sup>5</sup>**

Žádné zkřížené reaktivity s lidskými sérovými imunoglobuliny IgA, IgM, IgG nebo IgD se při normálních fyziologických hladinách nevyskytují.

### **D. Srovnání metod in vitro pro alergie<sup>5</sup>**

Průměrná shoda (vypočítaná jako účinnost) mezi každým CLA alergenem a alternativním testem in vitro je asi 90%; shoda se pohybuje v rozsahu 83% až 98%.

**POZNÁMKA:** Ke srovnání metod neexistují žádné dostupné standardizované alergeny, ani pro větší počet klinicky významných alergenů.

## **14** Literatura

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 Controls. 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, Berkey WE, eds *Biosafety in mikrobiological 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. Další dostupné údaje zašleme na požádání.

**Další technické informace lze získat u distributora firmy HitachiDiagnostics v České republice:**

APR s.r.o.  
Severozápadní V/35  
141 00 Praha 4 – Spořilov  
tel.: 272 766 361  
e-mail: [aprpraha@apr.cz](mailto:aprpraha@apr.cz)  
[www.apr.cz](http://www.apr.cz)