

АЛЬФА-1-АНТИТРИПСИН

Alpha-1-Antitrypsin

Кат. №: **ORG 286**

Дата випуску інструкції: **2016-07-28**
Версія 1



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

ПРИЗНАЧЕННЯ ТА КЛІНІЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Альфа-1-антитрипсин для Alegria® - це тест-система на базі ELISA для кількісного вимірювання альфа-1-антитрипсину в зразках стільця людини. Цей набір призначений тільки для професійного використання *in vitro* діагностики.

Визначення концентрації альфа-1-антитрипсину в калі використовується для оцінки рівня активності хронічних запальних захворювань кишечника. Альфа-1-антитрипсин можна виявити в калі під час витоку білка в кишечник або підвищеної проникності слизової оболонки кишечника. Підвищені значення можуть також спостерігатися при целиації, поліпах, дивертикуліті, раку товстої кишки, харчової алергії тощо.

СИМВОЛИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ

	Медицинський пристрій для діагностики <i>in vitro</i> Виробник		Alegria® Тест Смужки
	Каталоговий номер		Промивний буфер
	Містить достатньо для 24 випробувань Код партії		Системна рідина
	Використати до		Готовий до використання
	Обмеження температури		Екстракційний буфер для зразків стільця
	Звернутися до інструкції з використання		
	Не піддавати впливу сонячних променів		

КОРОТКИЙ ОПИС ТА ПОЯСНЕННЯ ТЕСТУ

Визначення концентрації Альфа-1-антитрипсину в калі використовується для оцінки рівня активності хронічних запальних захворювань кишечника. Крім того, фекальний Альфа-1-антитрипсин також є маркером витоку білка або підвищеної проникності слизової оболонки кишечника, коли слизовий бар'єр не є інтактним.

Цей білок є первинним інгібітором, який оборотно утворює комплекси із сериновими протеазами в травному тракті та з активними запальними імунними клітинами. На відміну від травних ферментів трипсину і хілотрипсину, еластаза поліморфноядерних нейтрофілних гранулоцитів (PMN-еластаза) є протеолітичним ферментом, який вивільняється під час запальних процесів. Альфа-1-антитрипсин зв'язується з PMN-еластазою і забезпечує обмеження їх протеолітичної активності на запаленій ділянці. Таким чином, альфа-1-антитрипсин відіграє важливу регуляторну та протизапальну роль, запобігаючи нападу на сусідні здорові тканини під час запального процесу. Ця функція робить альфа-1-антитрипсин індикатором активних запальних процесів.

Виведення альфа-1-антитрипсину зі стільцем також є маркером перетину сироваткових білків у просвіті кишечника. Підвищені значення альфа-1-антитрипсину в калі в першу чергу виявляються у випадках виразкового коліту та хвороби Крона. Однак, вони також зустрічаються у випадках ентерального витоку білка з інших причин, таких як хвороба Віппла, некротичний ентероколіт, туберкульоз кишечника, целиація, кишкова лімбама або системний червоний вовчак. Рівні альфа-1-антитрипсину також можуть бути підвищені у пацієнтів з кишковими поліпами, раком товстої кишки, дивертикулітом, харчовою алергією та вагітністю.

Альфа-1-антитрипсин є незалежним індикатором активності хвороби Крона. Дослідження показують, що існує також хороша кореляція з анатомічним поширенням захворювання. Вимірювання значень альфа-1-антитрипсину в калі також є хорошим способом моніторингу успіху лікування, виявлення наступаючих спалахів та визначення ступеня залишкового запалення після операції.

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Альфа-1-Антитрипсин, що міститься у зразку калу, має бути виведений із калу за допомогою середовища для екстракції калу. Потім вилучений альфа-1-антитрипсин можна аналізувати за допомогою аналізу Alegria® Alpha-1-антитрипсин.

Тест Alegria® містить 8-лункові мікросмужки зі штрих-кодами, які називаються тест-смужками Alegria®. Кожна смужка призначена для одноразового визначення одного зразка пацієнта. Тест-смужка Alegria® містить повний набір реагентів, включаючи ферментний кон'югат, ферментний субстрат, буфер для зразка та контрольний контроль. Крім того, кожна смужка має дві лунки, покриті антитілами, які служать реакційними лунками для одного контрольного зразка та одного зразка пацієнта.

Визначення ґрунтується на непрямій імунній реакції, пов'язаної з ферментом, з наступними етапами: Альфа-1-антитрипсин, присутній у контрольних/позитивних зразках, зв'язується з поверхнею реакційних лунок, утворюючи комплекс антитіло-антиген. Після інкубації на першому етапі промивання видалюються нез'язані та неспецифічно зв'язані молекули. Згодом доданий кон'югат ферменту зв'язується з іммобілізованим комплексом антитіло-антиген. Після інкубації другий етап промивання видалює нез'язані та заковдані на штрих-код, передаються з тест-смужки Alegria® на прилад, і аналіз автоматично обробляється та оцінюється. Прилад зчитує дату закінчення терміну придатності та відхиляє подальшу обробку, якщо тест-смужка Alegria® застаріла.

Тест-смужку Alegria® можна використовувати з діагностичним приладом Alegria® - повністю автоматизованим аналізатором доволі широкого доступу. За допомогою SMC®-Технології дані, заковдані на штрих-код, передаються з тест-смужки Alegria® на прилад, і аналіз автоматично обробляється та оцінюється. Прилад зчитує дату закінчення терміну придатності та відхиляє подальшу обробку, якщо тест-смужка Alegria® застаріла.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

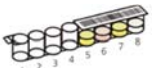
- Всі реагенти набору призначені тільки для професійної діагностики *in vitro*.
- Контроль містить матеріал людського походження. Оскільки жоден тест не може гарантувати відсутність інфекційних агентів у людському матеріалі, ми рекомендуємо використовувати тест-смужки Alegria® як потенційно інфекційний матеріал.
- Бичачий сироватковий альбумін (БСА), використаний в компонентах, був протестований на BSE і виявився негативним.
- Уникайте контакту із субстратом ТМБ (3,3', 5,5' - Тетраметилбензидином).
- Системна рідина містить кислоту, класифікація є безпечною. Уникайте контакту зі шкірою.
- Контроль, буфер для зразків і промивний буфер містять азид натрію 0,09% в якості консерванту. Ця концентрація класифікується як безпечна.
- Ферментний кон'югант містить ProClin 300 0.05% в якості консерванту. Ця концентрація класифікується як безпечна.

Під час обробки всіх реагентів, контролів і зразків сироватки дотримуватися існуючих правил лабораторної безпеки і належної лабораторної практики:

- Заходи першої допомоги: При попаданні на шкіру, негайно ретельно промити водою з милом. Зняти забруднений одяг і взуття і вимити перед повторним використанням. Якщо рідина системи вступає в контакт зі шкірою, ретельно промийте водою. Після контакту з очима ретельно промити відкриті око проточною водою щонайменше протягом 10 хвилин. Зверніться до лікаря, якщо це необхідно. Дихальні шляхи: вивести людей на свіже повітря. Ковтання: Промити рот і виплесніть рідину. Випийте 1 - 2 склянки води негайно. Під час спонтанної блювоти утримуйте голову постраждалого у похилому положенні, щоб уникнути проникнення блювоти в повітряну трубку.
- Особиста безпека, захисне спорядження і надзвичайні заходи: Дотримуватися правил техніки безпеки лабораторії. Уникайте контакту зі шкірою та очима. Не ковтайте. Не піпуйте ротом. Не їжте, не пийте, не курить і не наносите макіяж в тих місцях, де знаходяться зразки або реагенти набору. При розливанні зберіть інертним матеріалом і утилізуйте.
- Засоби індивідуального захисту: Одягайте захисні рукавички з нітритного каучуку або натурального латексу. Носіть захисні окуляри. Застосовуються відповідно за призначенням.
- Умови, яких слід уникати: Так як розчин субстрату є світлочутливим, зберігати смужки Alegria® в темряві.
- Для утилізації лабораторних відходів дотримуватися національного або регіонального законодавства.

Дотримуйтеся рекомендацій для виконання контролю якості в медичних лабораторіях шляхом аналізу контролю і/або об'єднаних сироваток.

ВМІСТ НАБОРУ

24	ORG 286	Достатньо для проведення 24 аналізів
	Тест-смужки Alegria®	Тест-смужки Alegria® є модулями з 8 лунок кожна, які складаються з:
	Alegria 24	
		Лунка 1+2: Порожні і без нанесення (лунки для розведення зразків)
		Лунка 3+4: Вкриті антигеном (реакційні лунки)
		Лунка 5: Контроль ; жовтого кольору; містить альфа-1-Антитрипсин , PBS, BSA, миючий засіб, консервант азиду натрію 0,09% та ProClin 300 0.05%.
		Лунка 6: Ферментний кон'югант ; світло-червоний; містить антитіла до альфа-1-Антитрипсин, мічені HRP; PBS, BSA, миючий засіб, консервант ProClin 300 0.05%.
		Лунка 7: Буфер для зразків : жовтий; містить TBS, стабілізуючий протеїн, миючий засіб, консервант азиду натрію 0.09%.
		Лунка 8: TMB субстрат : прозорий; містить 3,3', 5,5' - Тетраметилбензидин. Антитіла до альфа-1-Антитрипсин розміщені в мікролунках.

Штрих-код продукту : **alpha1 Antitr Stool**

1 x 20 мл	Промивний буфер , що містить Трис, миючий засіб, консервант азиду натрію 0,09%; 50 x концентрат
1 x 2.5 мл	Системна рідина , містить кислоти; 1000 x концентрат
1x 20 мл	Екстракційний буфер для зразків стільця ; містить TBS, стабілізуючий білок, екстракційний реагент, консервант азиду натрію 0.09%. Готовий до використання. (F5126)
1	Сертифікат аналізу

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ

- Вихровий міксер, шейкер-гойдалка, настільна центрифуга, додатково: прецизійні ваги
- Піпетки на 10 мкл
- Мірний циліндр на 1000 мл і 2500 мл, мікропробірки
- Дистильована або деіонізована вода

ДОПОМІЖНІ РЕАГЕНТИ ДЛЯ IVD

- **F5126 EXTRACT** Екстракційний буфер для зразків стільця. Цей компонент набору також доступний окремо.

ДОДАТКОВІ АКСЕСУАРИ

- ORG 282 Пробірки для екстракції зразків стільця; складається зі 100 пробірок.
 - SSCO Забірник для зразків стільця
- Ці додаткові засоби також доступні окремо.

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

- Зберігати тест-набір при температурі 2-8°C в темряві.
- Не надавайте реагенти впливу тепла, сонця чи сильного світла під час зберігання та використання.
- Постачаються тест-смужки Alegria® в герметично запакованих пакетах із затискачем та осушувачем.
- Термін придатності закритого набору становить 15 місяців від дати виробництва. Нерозкриті реагенти стабільні до закінчення терміну придатності набору. Див. на етикетки кожної партії.
- Розбавлений Миючий Буфер та Системна рідина стабільні щонайменше 30 днів за умови зберігання при температурі 2- 8°C.
- Після перенесення реагенту у контейнер, слід використати його в той самий день.

ПРОЦЕДУРНІ ЗАУВАЖЕННЯ

- Не використовуйте компоненти набору після закінчення терміну придатності.
- Всі матеріали слід привести до кімнатної температури (20-28°C) перед використанням.
- Для запобігання забруднення міняйте наконечники піпетки між зразками.

ЗАБІР, ПІДГОТОВКА, ЗБЕРІГАННЯ ТА ОБРОБКА ЗРАЗКА

Забір зразків стільця

Можна використати Забірник для зразків стільця (SSCO).

- Уникайте забруднення туалетною водою, яка містить дезінфікуючі засоби.
- Зберігайте зібрані зразки стільця не більше 5 днів при температурі 2-8°C. Крім того, можна зберігати при -20°C.

Підготовка зразка стільця

Екстракція Альфа-1-Антитрипсину з використанням пробірки для екстракції зразків стільця (ORG 282)

Для проведення аналізу Alegria® Альфа-1-Антитрипсин, зразок стільця потрібно розбавити **1:50** у даному EXTRACT.

Негомогезовані зразки повинні бути гомогенізовані перед відбором, наприклад за допомогою інокуляційної лупи. Для рідких зразків стільця рекомендується зважувати зразок. (див. Нижче метод без пробірки для екстракції)

1 Підготуйте пробірку для екстракції зразків стільця (ORG282)

Зразок стільця та буфер для екстракції повинні бути кімнатної температури.

Наповніть **750 мкл EXTRACT** у прозору трубку (1), і зафіксуйте лопаткою (частина 2) з синьою кришечкою на трубіці.

2 Візьміть зразок стільця

Відкрийте пробірку і витягніть оранжеву лопатку.

Візьміть зразок калу, вставивши лопатку у зразок стільця. Лопатка повинна бути повністю заповненою. Це приблизно виходить 15 мг стільця.

3 Поділіть зразок стільця

Вставте помаранчеву дозувальну лопатку у синю конусну вставку пробірки. Надлишки стільця витираються конусною вставкою.

Отримане розведення становить 1:50.

4 Екстракція

Покрутити 30 сек при 1800 об/хв, щоб видалити зразок стільця з лопатки. Потім гомогенізуйте протягом 15 хв при максимальній швидкості на шейкері.



Відкрийте пробірку. Помістіть гомогенат у мікропробірку. Центрифугуйте протягом 2 хв при 3000xg. Помістіть прозору рідину у іншу мікропробірку та протестуйте на Альфа-1-Антитрипсин **негайно**.

Такий екстракційний зразок стільця може зберігатися при температурі 2-8 °C до 5 днів або при -20°C до 1 тижня.

Екстракція без пробірки для екстракції стільця (ORG 282)

- Зразок стільця та середовище для екстракції стільця повинні бути кімнатної температури.
- Зважте порожню пробірку. Візьміть зразок калу і перенести в пробірку. Зважте та визначте масу нетто зразка.
- Додайте середовище для екстракції стільця у пробірку: **19-кратна вага нетто зразка необхідна, щоб отримати розведення 1:50**

зразок стільця	+	середовище для екстракції зразка	зразок стільця	+	середовище для екстракції зразка
15 мг	+	0.75 мл	60 мг	+	2.9 мл
20 мг	+	1.0 мл	70 мг	+	3.4 мл
30 мг	+	1.5 мл	80 мг	+	3.9 мл
40 мг	+	2.0 мл	90 мг	+	4.4 мл
50 мг	+	2.5 мл	100 мг	+	4.9 мл

Закрити пробірку. Вихрувати 30 секунд при 1800 об/хв, далі гомогенізувати протягом 15 хв на максимальній швидкості на шейкері.

Відкрити пробірку. Перенести гомогенат в мікропробірку. Центрифугувати 2 хв при 3000xg. Перенести прозору рідину в іншу мікропробірку та **негайно** перевірити наявність Альфа-1-Антитрипсину.

Екстрагований зразок калу можна зберігати при температурі 2-8°C до 5 днів або при -20°C до 1 тижня.

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Промивний буфер

Розбавте вміст концентрату Промивного буфера (50x) дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об'єму 1000 мл перед використанням. Внести розбавлений промивний буфер в контейнер для реагенту інструменту. Якщо проводитиметься тільки один аналіз на день, ми рекомендуємо вносити тільки 500 мл розведеного Промивного Буфера.

Системна рідина

Розбавте вміст концентрату Системної Рідини (1000x) дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об'єму 2500 мл перед використанням. Перенесіть розбавлену Системну Рідину в контейнер для реагенту інструменту.

Тестові смужки

Дістаньте необхідну кількість Alegria® тест-смужок з упаковки і доведіть їх до кімнатної температури (20-28 °C). Не знімайте покриття з порожніх лунок, поки ви не готові розпочати аналіз.

EXTRACT

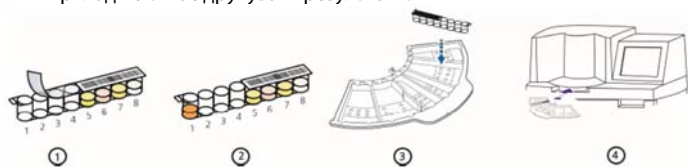
Готовий до використання.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТУ

Тест-смужки Alegria® з технологією SMC® використовуються з діагностичним інструментом Alegria®.

Детальну інформацію про роботу з приладом можна знайти в інструкції щодо застосування.

- 1) Зніміть покриття з порожніх лунок 1-4 на тест-смужках Alegria®.
Не знімайте покриття з лунок 5-8 з нанесеним на них штрих-кодом.
- 2) Піпетуйте **10 мкл** екстракційного зразка стільця на дно лунки 1.
- 3) Помістіть смужку в SysTraу.
- 4) Розмістіть завантажений SysTraу в правильному положенні на приладі Alegria® і почніть роботу. Всі подальші кроки будуть зроблені автоматично. Проведення аналізу вважається завершеним, коли прилад починає друкувати результати.



КАЛІБРУВАННЯ

Система аналізу відкалібрована з використанням референтної підготовки препарату Альфа-1-Антитрипсину.

ПІДРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

За допомогою SMC® Технології всі тестові дані передаються в систему через окремі штрих-коди на тест-смужках Alegria®. Розрахунок та інтерпретація результатів виконуватимуться автоматично.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Діапазон вимірювання

Діапазон розрахунку цього аналізу Alegria®: 80-3600 мкг/г

Очікувані результати

У нормальному діапазоні дослідження зі зразками здорових донорів крові з таким аналізом Alegria® встановлено наступні діапазони:

Cut off 400 мкг / г

Інтерпретація результатів

Нормальний діапазон: < 400 мкг/г
Підвищені значення: > 400 мкг/г

Лінійність

Зразки, які містять Альфа-1-Антитрипсин, були серійно розведені у Середовищі для екстракції стільця для демонстрації динамічного діапазону аналізу. Активність для кожного розведення розраховується за допомогою технології SMC®.

Зразок	Розведення	Отримане значення	Очікуване значення	Очк/Отр
		мкг/г	мкг/г	[%]
1	1	2443.0	2443.0	100
	2	1168.8	1221.5	96
	4	581.5	610.8	95
	8	275.0	305.4	95
2	16	156.1	152.7	90
	1	2000.0	2000.0	100
	2	1067.7	1000.0	107
	4	544.8	500.0	109
3	8	266.5	250.0	107
	1	1671.5	1671.5	100
	2	888.7	835.8	106
	4	445.2	417.9	107
	8	244.6	208.9	117

Чутливість

Найнижча концентрація, яку можна визначити: 139 мкг/г

Відтворюваність

Точність в межах тесту: Коефіцієнт варіації (CV) розраховували для кожного з трьох зразків за результатами 20 визначень в одному аналізі. Результати для точності в межах аналізу наведені в таблиці нижче.

Точність між тестами: Коефіцієнт варіації (CV) розраховували для кожного з трьох зразків за результатами 2 визначень в 5 різних аналізах. Результати для виконання до запуску точності наведені в таблиці нижче.

В середині аналізу		
Зразок	Середнє значення мкг/г	КВ [%]
1	357.8	5.8
2	660.7	9.0
3	2777.0	6.6

Між аналізами		
Зразок	Середнє значення мкг/г	КВ [%]
1	433.7	5.0
2	2578.4	9.7
3	2736.2	8.7

Інтерферуючі речовини

Наступні речовини були перевірені на 15 мг зразка стільця і не виявили жодного втручання: Ванкоміцин гідрохлорид 0,201 мг, Ципрофлоксацин 0,15 мг, Превазид 0,006 мг, Азатіоприн 0,021 мг, Преднізон 0,003 мг, Пентаса 0,399 мг, вітамін А 2,4 МО, Вітамін С 0.015 мг, Вітамін Е 0.03 мг, Вітамін D3 0.33 МО, Гемоглобін 1.749 мг.

Наступні мікроорганізми були протестовані при $1,1 \times 10^7$ CFU на 15 мг зразка стільця і не виявили втручання: *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*.

Результати досліджень

171 зразок було протестовано порівняльним методом. Досліджувана популяція містила 60 зразків від безсимптомних донорів, 38 зразків від госпіталізованих пацієнтів без додаткової інформації та 74 зразки від госпіталізованих пацієнтів із захворюваннями кишечника або іншими розладами черевної порожнини.

169 із 171 зразків показали відповідність результатів, що узгоджується у 98,8 %.

		Референтний метод		
		поз	нег	
Організм	ORG 286	поз	52	1
	Альфа-1-Антитрипсин	нег	1	117
			53	118
			171	
Чутливість:		98.1	%	
Специфічність:		99.2	%	
Загальне узгодження:		98.8	%	

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Цей аналіз є діагностичною допомогою. Визначений клінічний діагноз не повинен ґрунтуватися на результатах єдиного тесту, але повинен проводитися лікарем після того, як всі клінічні та лабораторні дані були оцінені щодо всієї клінічної картини пацієнта. Також кожне рішення для терапії приймається індивідуально.

Вищезазначені патологічний та нормальний референтні діапазони у зразках стільця пацієнтів слід розглядати лише як рекомендації. Кожна лабораторія повинна встановити власні діапазони відповідно до ISO 15189 або інших відповідних правил лабораторії.

Результати вище діапазону вимірювання 3600 мкг/г: ми рекомендуємо попередньо розвести вилучений зразок калу в

середовищі для екстракції стільця, наприклад. 1:5 і повторити тест з використанням попереднього розведення 10 мкл у лунці 1, як описано в розділі ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ. Помножити результат на коефіцієнт розведення, наприклад фактор 5.



ВИРОБНИК

ОРДЖЕНТЕК Діагностика ГмбХ
Карл-Цайс-Штрассе 49-51
55129 Майнц-Німеччина
Телефон: +49(0) 61 31/92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31/92 58-58
Інтернет: www.orgentec.com



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

