CS

REF 11560N
FOB Gold NG

Kvantitativní stanovení lidského hemoglobinu ve stolici imunoturbidimetrickou metodou pomocí latexu

REAGENT 1: 1 x 20 mL - REAGENT 2: 1 x 20 mL

IVD

CE

STANDARD/CALIBRATOR: termín odkazuje na dotyčný standard / dotyčný kalibrátor

REAGENT: termín odkazuje na jeden reagens **CONTROL**: termín odkazuje na kontrolu

OPATRNOST PŘI POUŽITÍ

Vedle rizikových reaktivních složek může výrobek obsahovat i nereaktivní složky, jako jsou konzervační činidla (např. azid sodný a další) a detergenty. Celková koncentrace těchto složek je nižší než limity povolené směrnicemi 67/548/EHS a 1999/45/ES a byly provedeny příslušné úpravy a dodatky týkající se klasifikace, značení a balení nebezpečných přípravků (reagencií). Přesto se doporučuje zacházet s reagenciemi opatrně, vyloučit jejich požití nebo styk s očima, pokožkou a sliznicemi a používat laboratorní reagencie v souladu se zásadami Správné laboratorní praxe.

SOUHRN

Test FOB Gold NG umožňuje kvantitativní stanovení lidského hemoglobinu (Hb) ve stolici. Vzhledem, k tomu, že ho lze snadno využít v automatických analyzátorech klinické chemie, lze jej použít při vyšetření řady onemocnění dolní části zažívacího traktu spojených s krvácením, např. kolorektálního karcinomu, polypů v tlustém střevě, Crohnovy nemoci a vředovité kolitidy. Metoda je specifická pro lidský hemoglobin a nevyžaduje žádnou omezující dietu bezmasou nebo neobsahující perioxidázu).

PRINCIP

Test FOB Gold NG je imunodiagnostická souprava určená k provádění citlivých, přesných a opakovatelných měření hladin lidského hemoglobinu ve vzorcích stolice. Je založen na aglutinační reakci antigen-protilátka mezi lidským hemoglobinem obsaženým ve vzorku a polyklonálními protilátkami protilidského hemoglobinu, kterými jsou povlečeny polystyrénové částice. Taková aglutinace se měří jako nárůst absorbance při 570 nm a je úměrná k množství lidského hemoglobinu obsaženého ve vzorku.

REAGENCIE

Reagencie uchovávané v neotevřených lahvičkách při teplotě 2-8 °C jsou stabilní do data expirace uvedeného na obalu.
Komponenty soupravy a počáteční koncentrace reaktivních složek:

- **REAGENT 1**
  tris buffer pH 8,5, metylisothiazolinon (MIT) ≤ 0,03 %
- **REAGENT 2**
  suspense latexových částic potažených králičími polyklonálními protilátkami proti lidskému hemoglobinu, pH 7,3, azid sodný< 0,1 %

UPOZORNĚNÍ A OMEZENÍ

ZVLÁŠTNÍ INFORMACE O REAGENCIÍCH: vzhledem k vysoké citlivosti metody a s uvážením toho, že se test provádí na automatických analyzátorech pro klinickou chemii používaných i pro jiné rutinní laboratorní rozbory, mohlo by dojít k pozitivní interferenci při stanovení okultní krve ve stolici kvůli vzorkům séra, moči nebo jiných tělesných tekutinobsahujícím minimální stopy krve.

PŘÍPRAVA ROZTOKŮ REAGENCIÍ

REAGENT 1 / REAGENT 2: připraveny k použití. Reagencie v neotevřených lahvičkách jsou stabilní do data expirace uvedeného na obalu.
Stabilita otevřené lahvičky: **30** dní při 2-8 °C ode dne otevření, zamezí-li se kontaminaci a lahvička se po použití ihned uzavře.Stabilita otevřené lahvičky vložené do analyzátoru je při 2-12 °C **30** dní.

KALIBRACE - Ke kalibraci používejte pouze následující materiály:

FOB Gold Calibrator REF 115732x2 mL
Lyofilizovaný kalibrátor obsahující lidský hemoglobin v koncentraci cca 1000 ng/ml. Koncentrace je uvedena na štítku lahvičky. Při použití se řiďte pokyny přiloženými k soupravě. Použijte kalibrátor k přípravě kalibrační křivky podle následující tabulky.

PŘÍPRAVA KALIBRAČNÍ KŘIVKY

Pracovní kalibrátory	1	2	3	4	5	6
Kalibrační roztok*	500 µL	500 µL	-	-	-	-
Běžný fyzroztok	-	500 µL	500 µL	500 µL	500 µL	500 µL
Pracovní kalibrátor 2	-	-	500 µL	-	-	-
Pracovní kalibrátor 3	-	-	-	500 µL	-	-
Pracovní kalibrátor 4	-	-	-	-	500 µL	-
Ředicí poměr	-	1:2	1:4	1:8	1:16	-
[hemoglobin] ng/mL	[C]	0,5x[C]	0,25x[C]	0,125x[C]	0,0625x[C]	0x[C]

[C] = koncentrace hemoglobinu v ng/ml uvedená na štítku lahvičky soupravy FOB Gold Calibrator. * = roztok v FOB Gold Calibrator

Stabilita kalibrace na automatickém nástroji činí 2 týdny.

KONTROLA KVALITY

K ověření přesnosti testu se doporučují níže uvedené kontrolní materiály na 2 různých úrovních analytického vzorku:

FOB Gold Control REF 11570 2x (2x2 mL)
Lyofilizované kontrolní sérum na 2 různých úrovních analytického vzorku. Při použití se řiďte pokyny přiloženými k soupravě.

VZOREK - K odběru vzorků používejte pouze následující materiály:

FOB Gold Tube **na jedno použití** **REF 11561** **100 testů**

FOB Gold Tube NG **na jedno použití** **REF 11561N** **100 testů**

Zkumavka na sběr stolice s obsahem tlumicího roztoku na extrakci a uložení hemoglobinu.
Aby se vzorek stolice v extrakčním roztoku zcela rozpustil, jemně protřepejte sběrnou zkumavku a vyčkejte alespoň **60** minut nebo čekejte, dokud se vzorek nerozpustí.
Při použití se řiďte pokyny přiloženými k soupravě.
Odebraný vzorek uložený ve zkumavce FOB Gold chráněné před přímým světlem je při 2-8 °C stabilní 1 týden.

MANIPULACE SE VZORKEM PŘI PROVÁDĚNÍ TESTU:

1. Noste rukavice na jedno použití.
2. **Přesvědčte se, že si zkumavka FOB Gold nepřekáží se vzorovací sondou nebo vzorkovým kotoučem nástroje; v případě potřeby přemístěte vzorek ze zkumavky do kališku na vzorek na nástroji.**
3. Odstraňte plochý bezbarvý uzávěr ze zkumavek FOB Gold a zkumavku položte na vzorkový kotouč nástroje.

VAROVÁNÍ: neodšroubovávejte světle fialový uzávěr(REF 11561) ani zelený (REF 11561N), aby nedošlo k rozstřiku kapaliny.

POTŘEBNÉ NÁSTROJE A MATERIÁLY NEDODÁVANÉ SE SOUPRAVOU

- FOB Gold Pack (500 ks) - REF 11561P: souprava obsahuje 1 list pokynů pro odběr vzorků a 500 plastových sáčků pro ukládání a převoz sběrných zkumavek.
- Běžné laboratorní vybavení.
- Fotometr s filtry, spektrofotometr nebo automatický analyzátor pro klinickou biochemii.
- Destilovaná voda.
- Fyziologický roztok (chlorid sodný 9 g/l).

ANALYTICKÝ POSTUP

Vlnová délka:	Hlavní = 570 nm
	Referenční = 800 nm*
Délka dráhy:	1 cm
Teplota:	37 °C
Vzorek/ REAGENT 1/ REAGENT 2:	1/10,4/10,4
Reakce:	Pevná doba (nárůst)

*** = místo 800 nm jako referenční vlnové délky lze rovněž použít 700 nm při předpokládaném poklesu v delta abs. cca 30 %.**Před použitím počkejte ažreagencie budou mít pracovní teplotu.
Při proporcionální změně reakčních objemů uvedených v analytickém postupu bude výsledek stejný.

PŘÍKLAD ANALYTICKÉHO POSTUPU NA AUTOMATICKÝCH NÁSTROJÍCH

Čas 0
Kalibrátor / kontroly/ vzorek = 15 µl
R1 = 125 µl

Po 300 vteřinách
Přidání R2 = 125 µl

Po 50-70 vteřinách
Odečet 1

Po 90-110 vteřinách
Odečet 2

VÝPOČET

1. Na milimetrový papír nakreslete kalibrační křivku načrtnutím absorbance (osa y) podle odpovídající koncentrace ng/mL (osa x) pro každý kalibrátor.
2. Na kalibrační křivce označte hodnotu absorbance získanou ze vzorků a kontrol.
3. Z kalibrační křivky extrapolujte hodnotu ng/mL pro vzorky a kontroly.

Konverzní faktor - Hb [ng/ml]: 1000 = Hb [µg/ml]

HRANIČNÍ HODNOTY

Doporučuje se, aby si každá laboratoř stanovila pro svou práci hraniční hodnotu podle populace a účelu analýzy (např. screening, další screening, atd.) Zkušební srovnání FOB Gold NG REF 11560N s testem FOB Gold REF 11560 na 131 vzorcích lidské stolicelů neukázalo statisticky významnou systematickou chybu na úrovni klinického rozhodnutí, a potvrdilo tak index pozitivity 7,8 % při hraniční hodnotě 50 ng/ml a index pozitivity 4,5 % při hraniční hodnotě 100 ng/ml.

K diagnostickým účelům je třeba výsledky FOB vždy vyhodnotit společně s klinickou historií pacienta a dalšími klinickými nálezy.

VÝKONNOST
(stanoveno na automatickém analyzátoru)

Interference: test není ovlivněn přítomností bilirubinu do **250** µg/ml, kyseliny askorbové (vitamin C) do **100** µg/ml, BSA do **40** g/L, $BaSO_4$ do **80** µg/ml a železa do **1000** µg/dl. Ostatní hemoglobiny zvířecího původu (hovězí, prasečí, králičí, koňské, rybí, ovčí, kuřecí a kozí) nezasahují významným způsobem do testu až do **2500** ng/ml.

Křížová reaktivita: vzhledem k významné podobnosti beta-řetězci Hb vykazoval lidský myoglobin křížovou reaktivitu cca **25** %.

Varianty lidského hemoglobinu: analýza rozlišuje následující varianty lidského Hb: Hb S, Hb C, Hb A2 a Hb D.

Interval měření: od **15** ng/ml do nejvyšší koncentrace kalibrátoru. Interval měření závisí na nejvyšším kalibračním bodu. Vzorky s koncentrací překračující interval měření je třeba naředit fyziologickým roztokem v poměru 1:10 a výsledek vynásobit 10.

Celková přesnost: byla zjišťována po dobu 20 dní na 2 kopích dvakrát denně na 3 úrovních (L1/L2/L3). Výsledky jsou uvedené v tabulce:

	Průměrný	Opakovatelnost		Mezi analýzami		Celkem	
	ng/ml	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
L1	62,5	1,5	2,4	1,8	3,0	2,3	3,9
L2	93,4	2,2	2,5	0,7	0,8	2,7	3,0
L3	301,7	3,7	1,2	5,9	2,0	7,0	2,3

Kvantitační limit (LOQ): **15** ng/ml. LOQ je koncentrace analytu, při které je nepřesnost ≤ 20 % jako CV %.

Prozónový efekt: bez prozónového efektu do **35000** ng/ml (35 µg/ml). **Doporučuje se ověření této hodnoty na každém analyzátoru nastavením poplachů pro případ vysoké dávky analytu.**

Srovnání metod: tento test FOB Gold NG (y) byl porovnán s komerčně dostupnou metodou (x, FOB Gold REF 11560). Naměřené výsledky byly:
N = 131, r = 0,989, y = 0,94 x +13
Min. testovaná hodnota: **0** ng/ml - MAX testovaná hodnota: **1456** ng/ml

ZACHÁZENÍ S ODPADY

Reagencie je třeba likvidovat v souladu s místními předpisy.

LITERATURA

1) M. Nagata, T. Tanaka: Journal of Immunological Methods, 153, 185-192, 1992.
2) Review Criteria for Assessment of Qualitative Fecal Occult Blood In Vitro Diagnostics Devices. FDA; Guidance for Industry and FDA Staff. August 8th 2007.

SENTINEL DIAGNOSTICS
SENTINEL CH. SpA - Ph. +39 02 3455141
Via Robert Koch, 2 Milano 20152 Italy
www.sentineldiagnostics.com