

ИНСТРУКЦИЯ

**Тест-система для качественного экспресс
определения Общего IgE в цельной крови,
сыворотке или плазме человека**

**Литеральный проточный иммуноанализ (ALFA)
Формат 20 тестов**

для диагностики *in vitro*

Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2007/00940 от 05.05.2015 г.

DR. FOOKE
LABORATORIEN GMBH

Тел.: +7 (495) 799-1165

E-mail: info@fooke.ru

www.fooke.ru

Внимание! Перевод сделан с английского оригинала полной версии инструкции по применению. Фирма изготовитель может, вкладывать в набор многоязычный вариант инструкции.

ВВЕДЕНИЕ

Аллергические реакции немедленного типа (аллергии I типа) опосредуются аллерген-специфическими иммуноглобулинами класса E. Концентрация IgE в сыворотке крови в норме зависит от возраста, максимальная концентрация приходится на возраст 6-15 лет. Присутствие аллереген-специфических IgE часто сопровождается высокими титрами общего IgE в крови пациентов. В этих случаях титр может возрасти 1000-кратно. Обычно концентрации IgE выражаются в международных единицах на миллилитр (МЕ/мл), при этом 1 МЕ/мл соответствует 2,4 нг IgE. Самые высокие концентрации IgE бывают у пациентов с atopическим дерматитом, у которых их уровень часто достигает 50000 МЕ/мл. Кроме того, повышенные титры IgE могут наблюдаться у пациентов с паразитарными заболеваниями. Отклонения от нормальных значений также были описаны у пациентов с определенными аутоиммунными нарушениями.

НАЗНАЧЕНИЕ

ALFA Total IgE (Allergy Lateral Flow Assay) – иммунохроматографический экспресс-тест для качественного определения общего IgE в сыворотке, плазме или цельной крови человека.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Для проведения теста образец пациента вносят на область для нанесения образца в тестовом модуле Базового набора. Сразу же после этого наносят Раствор антител к IgE. Во время инкубации в течение 25-30 мин жидкость, движимая капиллярным потоком, проходит через устройство. Антитела к IgE специфически связываются с антителами класса IgE из образца. Меченые антитела к IgE задерживаются молекулой-ловушкой в области тестовой линии (Т). В то же время, IgE пациента, связанные с антителами к IgE, связываются антителом с окрашенными частицами (конъюгат). Интенсивность цветовой реакции в области трёх тестовых линий пропорциональна количеству иммунных комплексов, состоящих из антител к IgE с мечеными лигандами, IgE и IgE-специфического конъюгата. Для интерпретации результата оценивают число видимых тестовых линий и их интенсивность, используя оценочную карту. Избыток конъюгата, который не связался на уровне тестовой линии, окрашивает контрольную линию (С) в темно рубиновый цвет через 25-30 минут инкубации.

КОМПОНЕНТЫ НАБОРА

ALFA Total IgE Иммунохроматографический экспресс-тест для определения общего IgE

Набор ALFA Total IgE:	20 тестовых модулей-кассет, готовых к применению. Каждая кассета упакована в индивидуальный фольгированный пакет с влагопоглотителем.
Раствор анти-IgE:	1 флакон раствора 2,0 мл для 20 тестов. Готов к применению
Оценочная карта:	Цветная индикаторная карта для оценки результатов реакции
Каталожный номер:	183000
Хранение:	При 2-8°C, не замораживать! Использовать сразу же после открытия пакета из фольги!
Срок годности:	Годен до даты истечения срока годности при условии хранения в соответствии с инструкциями.

МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ НАБОРА И ЗАКАЗЫВАЕМЫЕ ОТДЕЛЬНО

- Микропипетка объемом 10-20 мкл и наконечники для пипетки
- Пробирки для препаратов сыворотки, если необходимо

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Для данного анализа можно использовать цельную кровь, сыворотку или плазму. Нельзя использовать гемолитические или липемические образцы. Для сохранения целостности образцов не нужны никакие добавки или консерванты, если образцы хранятся при температуре 2-8°C и анализ проводится в течение 48 часов после взятия образцов. Если это невозможно или если нужна транспортировка образцов, образцы необходимо заморозить. Для проведения анализа образцы следует разморозить и довести до комнатной температуры (комнатная температура, 18-25°C). Следует избегать повторного замораживания и размораживания.

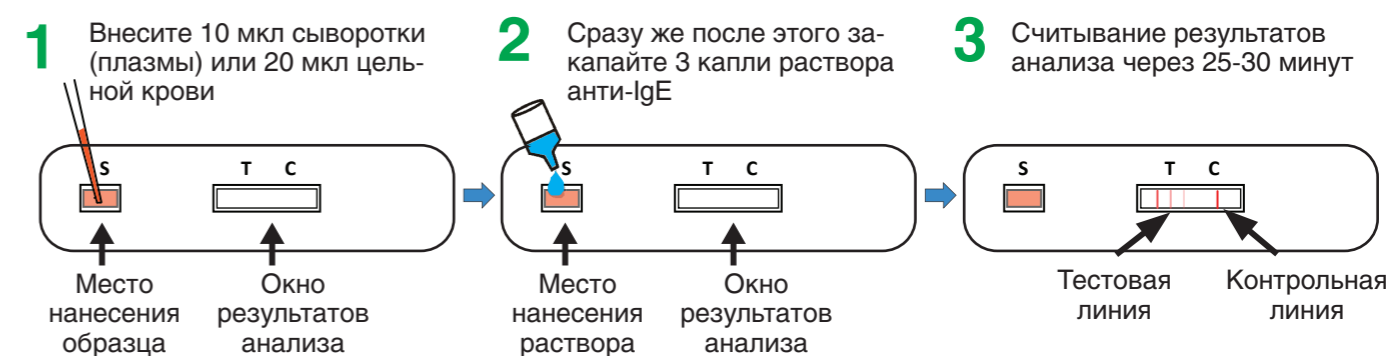
ПРОЦЕДУРА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА**Внимание!**

Доведите Базовый набор модулей-кассет (в пакете из фольги) и раствор анти-IgE до комнатной температуры, как минимум за 30 минут до начала анализа.

- Не используйте тестовый модуль, если пакет из фольги поврежден
- Используйте тестовый модуль в течение 30 минут после открытия пакета из фольги
- Не проводите анализ в условиях воздействия прямых солнечных лучей
- Не допускайте движения кассеты во время проведения анализа

1. Внесите (закапайте) **10 мкл сыворотки (плазмы) или 20 мкл цельной крови** в тестовый модуль (кассету) на область для нанесения образца.
2. Сразу же после этого, внесите (закапайте) **3 капли** раствора анти-IgE в тестовый модуль (кассету) на область для нанесения образца.
3. Результат анализа визуализируется в окне оценки через 25-30 мин инкубации.

Результаты анализа следует интерпретировать в промежутке от 25 до 30 минут после начала анализа. Оценка до или после указанного интервала может привести к ошибочной интерпретации результата!

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ****Внимание!**

Результат теста действителен только при условии видимой четкой контрольной линии (С) в тестовом модуле. Результаты ALFA Total IgE – иммунохроматографического экспресс-теста для определения общего IgE следует оценивать по числу видимых тестовых линий (Т) и по их интенсивности, используя оценочную карту, входящую в комплект поставки вместе с данным тестом.

Необходимо учитывать следующее:

- Опытный пользователь может осуществлять оценку в МЕ/мл. Однако рекомендуется оценивать результаты в соответствии с указанными классами.

- Слабые сигналы могут визуализироваться не ранее чем через 25-30 минут инкубации.
- Высоко-положительные результаты могут визуализироваться до истечения 25-30 минут инкубации.
- В большинстве случаев цвет контрольной линии интенсивнее цвета тестовых линий.
- При анализе образца с очень высокими титрами общего IgE (> 5000 МЕ/мл) может иметь место недооценка результатов (*хук-эффект высоких концентраций*).

ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

Корреляция результатов экспресс-теста ALFA Total IgE с результатами эталонного метода
Хи-квадрат критерий (χ^2) проверки результатов экспресс-теста ALFA Total IgE и результатов иммуноферментного теста Total IgE HRP EIA (08102CP) имеющего маркировку CE компании Dr. Fooke Laboratorien GmbH составляет 58,3.

Воспроизводимость экспресс-теста ALFA Total IgE

Хи-квадрат критерий (χ^2) проверки результатов двух наблюдателей составляет 29,9. Вариабельность между сериями анализов, выраженная в процентах составляет 16%.

ДИАПАЗОН ИЗМЕРЕНИЯ

Диапазон измерения экспресс-теста ALFA Total IgE определяется предоставляемой оценочной картой и составляет от 5 МЕ/мл до 1000 МЕ/мл.

ПРЕДЕЛ ОБНАРУЖЕНИЯ

Предел обнаружения для экспресс-теста ALFA Total IgE составляет 5 МЕ/мл. Контроль с применением буфера не даёт ложно-положительных результатов.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

До клинической оценки результатов, каждая лаборатория должна установить свой собственный диапазон нормальных значений в зависимости от возраста, используя надлежащую статистическую обработку данных за соответствующий период времени по соответствующему количеству пациентов. Приведенные ниже результаты можно использовать только в качестве ориентира.

Возраст (лет)	n	Среднее (МЕ/мл)	Среднее + 1 SD (МЕ/мл)
1-2	29	20	64
3-5	31	35	119
6-15	45	51	150
16-20	59	38	123
21-30	114	27	100
31-40	38	34	113
>40	109	34	114
Всего	425	32	108

SD = стандартное отклонение

ЛИТЕРАТУРА

Список литературы приведен в оригинале инструкции на английском языке.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

1. В соответствии со статьей 1, параграф 2b, Европейской директивы 98/79/ЕС, для использования медицинских изделий для диагностики *in-vitro* производителем предусмотрено обеспечение пригодности, технических характеристик и безопасности продукта. Поэтому необходимо строго следовать процедуре анализа, информации, особым указаниям и мерам предосторожности,

изложенным в инструкциях по применению. Набор необходимо использовать только в соответствии с описанием, представленным на странице 1 (предназначение).

2. Тест необходимо проводить в соответствии с данной инструкцией, в которой представлена вся необходимая информация, а также особые указания и меры предосторожности. Необходимо подвергнуть проверке использование набора для анализа вместе с анализаторами или аналогичным оборудованием. Никакие изменения конструкции, состава или процедуры анализа, равно как и использование в сочетаниях с другими продуктами, не одобренными производителями, не разрешены; за такие изменения, которые могут привести к ложным результатам и другим инцидентам, ответственность несет сам пользователь.

3. Набор предназначен для использования только обученными и квалифицированными специалистами, проводящими исследования или осуществляющими диагностику. Беременные женщины не должны проводить данный анализ.

4. Лабораторное оборудование следует содержать в соответствии с инструкциями производителя, перед применением необходимо проверить правильность его работы.

5. Только для диагностического применения *in-vitro*. Только для однократного применения. Не используйте компоненты с истекшим сроком годности. Не сочетайте с данным набором реагенты других поставщиков или компоненты наборов из других партий (если только на странице 1 не указано иное).

6. Не используйте компоненты набора, если упаковка компонента повреждена. Сразу же после использования плотно закрывайте флаконы, чтобы избежать испарения и микробного загрязнения. Не меняйте завинчивающиеся крышки флаконов с реагентами.

7. Диагностические компоненты, полученные на основе сыворотки крови человека, были протестированы методом с маркировкой CE на антитела к ВИЧ 1/ВИЧ 2, антитела к ядерному антигену вируса гепатита В, антитела к вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В, и были признаны отрицательными. Тем не менее, с материалами на основе сыворотки крови человека следует обращаться как с потенциально инфицированными (БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОПАСНОСТЬ).

8. Некоторые компоненты набора могут содержать бычий сывороточный альбумин, который, по данным производителя, не несет в себе никакой известной возможности инфицирования. Поскольку иногда могут встречаться неподдающиеся обнаружению возбудители инфекции, мы рекомендуем обращаться с любым продуктом животного происхождения как с потенциально различным.

9. В отношении всех реагентов необходимо соблюдать следующие правила безопасности:

- Не допускать попадания в глаза, на кожу или на одежду (P262). Не вдыхать спрей (P260).

- В СЛУЧАЕ ПРОГЛАТЫВАНИЯ: прополоскать рот. НЕ вызывать рвоту (P301/330/331)

- В СЛУЧАЕ ПОПАДАНИЯ НА КОЖУ (или на волосы): Сразу же удалить/снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой/душем (P303/361/353).

- В СЛУЧАЕ ВДЫХАНИЯ: Вывести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить покой в положении, удобном для дыхания (P303/340).

- В СЛУЧАЕ ПОПАДАНИЯ В ГЛАЗА: Осторожно промывать водой в течение нескольких минут. Если есть контактные линзы, снять их, если это не сложно. Продолжить промывание глаз. (P305/351/338)

- Во время проведения анализа нельзя есть, пить и курить. Нельзя держать поблизости продукты питания, корма и напитки.

- Необходимо надевать защитные перчатки/защитную одежду/средства для защиты глаз (P280).

Следует тщательно мыть руки после обращения с продуктом (P264) и обеспечить уход за кожей.

10. Консерванты (Бронидокс L, Азид) токсичны для водных организмов, но их концентрация не опасна для окружающей среды. При утилизации большие объемы реагентов следует смывать большим количеством воды.

11. Отходы, в составе которых присутствует сыворотка, следует собирать в отдельные контейнеры, содержащие надлежащее дезинфицирующее средство в достаточной концентрации. С данным веществом следует обращаться в соответствии с национальными руководствами или нормативами, касающимися биологической опасности и безопасности.

12. Настоящим отсылаем вас к национальным нормативам по медицинским изделиям, касающимся наборов для анализов, предназначенных для *in-vitro* диагностики.

BACKGROUND

Allergic reactions of the immediate type (type I allergies) are mediated by allergen specific Immunoglobulin of class E. The normal serum IgE concentration is age dependent with a peak at the age of 6-15 years. The occurrence of allergen specific IgE is often accompanied by increased titres of total IgE in the blood of the patients. In these cases the titre can increase up to 1000fold. Usually, IgE concentrations are determined in international units per millilitre (IU/mL) whereat 1 IU/mL corresponds to 2.4 ng of IgE. Highest IgE concentrations occur in patients with atopic dermatitis in which they often reach levels of 50.000 IU/mL. Moreover, increased titres of IgE can be observed in patients with parasitic diseases. Deviations to the normal values have also been described in patients with certain autoimmune disorders

INTENDED USE

ALFA (Allergy Lateral Flow Assay) Total IgE is a rapid assay for the qualitative determination of total IgE in human serum, plasma or whole blood.

PRINCIPLE

ALFA Total IgE consists of a test device – the ALFA Total IgE Basis Set – in combination with an Anti-IgE Solution.

To perform the test the patient's sample is transferred to the sample application point of the Basis Set. Immediately afterwards the Anti-IgE Solution is applied. During incubation time of 25-30 min the liquid is driven through the device by capillary flow. Anti-IgE binds specifically to IgE antibodies of the sample. The anti-IgE is labelled and is retained at the test line (T) by a capture molecule. At the same time, patients IgE bound to anti-IgE is bound by an antibody coupled to coloured particles (conjugate). The intensity of the colour-reaction of the three test lines is proportional to the amount of immune complexes consisting of ligand tagged anti-IgE, IgE, and IgE specific conjugate. For interpretation of the result, the number of visible test lines and their intensity is assessed by an evaluation card.

Access conjugate which is not bound at the test line forms a dark-ruby control line (C) after 25-30 min of incubation.

KIT COMPONENTS**ALFA Total IgE**

Basis Set: Basis Set (ready to use) for the detection of total IgE 20 test units = 20 determinations

ALFA Anti-IgE

Solution: Ready to use

Evaluation Card: For assessment of the result

Order number: 183000

Storage: At 2-8°C, do not freeze! Use Basis Set immediately after opening the foil pouch!

Shelf life: To expiry date if stored according to the instructions

MATERIAL NEEDED BUT NOT PROVIDED

- micro pipette and pipette tips for 10-20 µL
- tubes for serum preparation if required

SPECIMEN COLLECTION & PREPARATION

Serum, plasma or whole blood can be used with this assay. The use of haemolytic or lipemic specimens must be avoided. No additives or preservatives are necessary to maintain the integrity of the specimens if stored at 2-8°C and assayed within 48 hours after collection. If this is not possible or if specimens have to be shipped, samples must be frozen. To perform the assay, thaw and bring samples up to room temperature (RT, 18-25°C). Repeated freezing and thawing should be avoided.

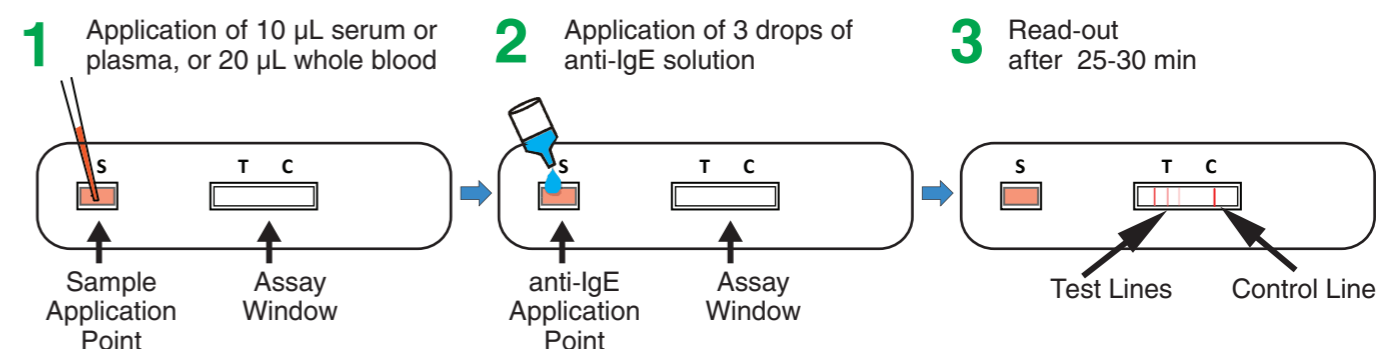
ASSAY PROCEDURE**Attention!**

Bring Basis Set (in foil pouch) as well as the Anti-IgE Solution up to RT, at least 30 min before performing the assay.

- If the foil pouch is damaged do not use the test unit.
- Use the test unit within 30 min after opening the foil pouch.
- Avoid performing the test in direct sunlight.
- Avoid movement of the cassette while running the assay.

1. Transfer **10 µL of serum or plasma, or 20 µL whole blood** to the sample application point of the Basis Set.
2. Immediately afterwards apply **3 drops of the desired Anti-IgE Solution** to the sample application point of the Basis Set.
3. The test result will be visible in the evaluation window after 25-30 minutes of incubation.

The test result has to be interpreted within 25 to 30 min after starting the assay. Any assessment which is done later or earlier can cause erroneous interpretation of the result!

TEST SCHEME**INTERPRETATION OF THE RESULTS****Attention!**

The test result is only valid if the control line (C) of the test unit is clearly visible.

The results of ALFA Total IgE have to be evaluated based on the number of visible test lines (T) and their intensities by an evaluation card delivered with this assay.

Attention should be drawn to:

- For the experienced user assessment in IU/mL is possible. However, assessment of the results in the given classes is recommended.
- Weak signals may become visible not before 25-30 min of incubation.
- Strong positive results may become visible before 25-30 min of incubation.
- The colour of the control line is usually more intensive than of the test lines.
- Sample with very high titres of total IgE (> 5000 IU/mL) can lead to undervalued results (high-dose-hook-effect).

PERFORMANCE**Correlation of ALFA Total IgE to Reference-Method**

Chi-square (2) between ALFA Total IgE and results of the CE-labeled Total IgE HRP EIA (08102CP) of Dr. Fooke Laboratorien GmbH is 58.3.

Reproducibility of ALFA Total IgE

Chi-square (2) between results of two observers is 29.9. Inter-Assay Variation in % is 16.

IMEASURING RANGE

The measuring range of ALFA Total IgE is defined by the provided evaluation card and ranges from 5 IU/mL to 1000 IU/mL.

DETECTION LIMIT

The detection limit of ALFA Total IgE is 5 IU/mL. The buffer control gives no false positive results.

EXPECTED VALUES

Before clinical assessment of the results, every laboratory should establish its own age-related normal range by using appropriate statistics over a relevant time span and with relevant patient number. The results(1) below can be used as a

Age (years)	n	Mean (IU/mL)	Mean + 1 SD (IU/mL)
1-2	29	20	64
3-5	31	35	119
6-15	45	51	150
16-20	59	38	123
21-30	114	27	100
31-40	38	34	113
>40	109	34	114
total	425	32	108

SD = Standard Deviation

LITERATURE

1. Wittig H, Bellot J, Fillippi I, Royal G. Age-related Serum IgE Levels in Healthy Subjects and in Patients with Allergic Disease. J Allergy Clin Immunol 1980, 66:305-313.
2. Lucassen R, Mahler M, Fooke M. Development and evaluation of a new rapid assay for semi-quantitative detection of total IgE in human serum and capillary blood. Abstract: EAACI 2008 Barcelona, Spain.

PRECAUTIONS FOR USERS

1. In compliance with article 1 paragraph 2b European directive 98/79/EC the use of in-vitro diagnostic medical devices is intended to secure suitability, performance and safety of the product by the manufacturer. Therefore the test procedure, information, precautions and warnings stated in the instructions for use have to be followed strictly. The kit has only to be used as described on page 1 (intended use).
2. The test must be performed according to this instruction, which contains all necessary information, precautions and warnings. The use of the test kit with analyzers and similar equipment has to be validated. Any change in design, composition of the test procedure as well as for any use in combination with other products not approved by the manufacturer is not authorized; the user himself is responsible for such changes resulting in false results and other incidents.
3. The kit is intended for use by trained and qualified professionals carrying out research or diagnostic activities only. Pregnant women should not perform the test.
4. Laboratory equipment has to be maintained according to the manufacturer's instructions and must be tested for its correct function before use.
5. For in-vitro diagnostic use only. Use only once. Do not use components exceeding the expiry date. Do not combine reagents of other suppliers or kit components of different lots (unless specified on page 1) with this kit.
6. Do not use kit components when the package of the component is damaged. Cap vials tightly immediately after use to avoid evaporation and micro-biological contamination. Do not interchange screw caps of the reagent vials.

7. Test components based on human serum were tested using a CE marked method for the presence of antibodies against HIV 1 / HIV 2, Anti-HBc, and Anti-HCV as well as for hepatitis antigen HBsAg and were found to be negative. Nevertheless, material based on human serum should be handled as potentially infectious (BIOHAZARD).

8. Some kit components may contain bovine serum albumin, of which according to the manufacturer no infectious potential is known. Due to the eventual occurrence of undetectable infectious agents we recommend to handle any product of animal origin as potentially infectious.

9. The following safety rules should be followed with all reagents:

- Do not get in eyes, on skin, or on clothing (P262). Do not breathe spray (P260).
- IF SWALLOWED: rinse mouth. Do NOT induce vomiting (P301/330/331)
- IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower (P303/361/353).
- IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing (P303/340).
- IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. (P305/351/338)
- Don't eat, drink or smoke while performing the test. Keep away from food, feed and beverage.
- Wear protective gloves/protective clothing/eye protection (P280). Wash hands thoroughly after handling (P264) and care for your skin.

10. The preservatives (Bronidox L, Azid) are toxic to aquatic life, but their concentration is not hazardous to environment anymore. On disposal, flush large volumes of reagents with plenty of water.

11. Waste containing serum must be collected in separate containers containing an appropriate disinfectant in sufficient concentration. This material has to be treated according to national biohazard and safety guidelines or regulations.

12. We refer to the national regulations of medical devices regarding in-vitro diagnostic test kits.

DR. FOOKE
LABORATORIEN GMBH

Тел.: +7 (495) 799-1165

E-mail: info@fooke.ru

www.fooke.ru