



HgB-HSA kombi teszt

H-1047 Budapest, Attila u. 126.
+36-1-369-0739, +36-1-380-4500
+36-1-369-4383
business@diagnosticum.hu

ELISA reagenskészlet colorectalis carcinoma (CRC) szűrővizsgálatára

Kiszereles: 24 tesztszék

Gyári kódszám: 10321

ENKK nyilv. szám: HU/CA01/058885/16

A KÉSZLET TARTALMA:

anti-human Hgb-HSA kettős immunitású poliklonális ellenanyaggal érzékenyített mikrotitráló lemez 96 vizsgálathoz	2 db
Human szérumbalbumin (HSA) standard (5db.)	100µl
magas kontroll (rózsaszín)	100 µl
alacsony kontroll (kék)	100 µl
Anti-humán Hgb-HSA-HRPO konjugátum (sárga)	150µl
Konjugátum hígító puffer	30ml
Tris-EDTA-Tween 20 (TTBS) mosó-hígító puffer (10x)	130ml
TMB szubsztrát oldat	2x16 ml
0,25M kénsav	2x18ml
Lezáró öntapadó lap	4 db
11561 N Sentinel FOB Gold Tube NG (külön csomagolva)	160 db

A VIZSGÁLAT ELVE:

A **HgB-HSA kombi teszt** egy szilárdfázisú enzim-immunassay, mely a székletmintában lévő két vérfehérje (hemoglobin és albumin) egyidejű meghatározásán alapul. A székletmintában lévő vérfehérjék az ELISA lemez mélyületeihez kötött kettős immunitású-, azaz anti-human hemoglobin (a-huHgB) és anti-human szérumbalbumin (a-HSA) specifikitású poliklonális ellenanyaggal reagálnak. A következő lépésben a vizsgálati lemez felületén kialakult immunkomplexeket reagáltatjuk a specifikus anti-HgB-HSA peroxidáz-enzimmel jelzett immunglobulinnal (konjugátumaival). Pozitív esetben kapott immunkomplexek az enzim specifikus szubsztrátjával (TMB) kapott színreakció alapján fotometriásan értékelhetők. A színreakció arányos a kialakult immunkomplexek mennyiségével és megfelelő kalibrátorok segítségével értékelhetők.

A MÉRÉS ELVÉGZÉSÉHEZ SZÜKSÉGES EGYÉB ANYAGOK ÉS KÉSZÜLÉKEK:

Ionmentes vagy desztillált víz
5-40, 20-200, és 200-1000 automata pipetták
Úvegedények a hígításhoz és méréshez
Adaltis PersonalLab tartozékai (puffer tartó, konjugátum/TMB/stop oldat tartó, standard/kalibrátor tartó, mintatartó csövek)

A KIT TÁROLÁSA, KEZELÉSE:

A kit minden komponensét 2-8 °C-on kell tárolni.
Felhasználni a címkén feltüntetett ideig szabad.
Egy órával a felhasználás előtt a szükséges komponenseket hagyjuk szobahőmérsékletre felmelegedni. A vizsgálat megkezdéséig a titrálólemez szükséges mennyiségű tesztszékjait se vegyük ki a fóliából, a maradék csököket lehetőség szerint forrasszuk vissza, óvjuk a nedvességtől.
A hígított reagensket ne tároljuk, ne használjuk fel későbbi vizsgálatokhoz!
A különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők egymással!

ELŐÍRÁS ÉS FIGYELMEZTETÉS:

A készlet némelyik komponense konzerválólóként nátrium azidot, tiomersált és antibiotikumot tartalmaz.
A kontrollokat és a mintákat potenciális biológiai veszélyforrásként kell kezelni, és az erre vonatkozó általános laboratóriumi higiénés szabályokat be kell tartani: ne pipetázzuk szájjal, felhasználás közben ne együnk, ne igyunk, ne dohányozzunk, használjunk gumikesztyűt! Vigyázzon, hogy ne történessen tűszúrás, hámsérülés, vagy nyálkahártyára fröccsenő anyag miatt önfertőződés. Munka után a használt eszközöket a vonatkozó szabályozásoknak megfelelő dekontaminálás után dobjuk el és mossunk kezet!
Különösen ügyeljünk a pipetta hegyek és a hígító edények tisztaságára, a szennyeződött komponensek nem használhatóak fel további mérésekhez. A vegyszer és mosószer maradványok gátozhatnak, vagy beindíthatják a reakciót!
Megfelelő eredményt csak az előírások pontos betartása esetén kapunk!
Csak *in vitro* diagnosztikai célra használható, és kizárólag gyakorlott laboratóriumi szakember használhatja!

A VIZSGÁLAT KIVITELEZÉSE:

1. HÍGÍTÁS, ELŐKÉSZÍTÉS:

- A 10x tömény TTBS-Tween 20 mosó-hígító pufferből készítsünk ionmentes vagy desztillált vízzel hígítva 1:10 arányú, 1x tömény mosó-hígító puffert. (Pl.: 6 sor használata esetén 10ml 10x tömény puffert 90ml ionmentes vagy desztillált vízzel hígítsunk).
- A standard-ekből elkészítjük a megfelelő standard görbe koncentrációs pontjait:
Standard pontok: 50; 25; 12,5; 6,25 ; 3,12 ng/ml. Készítsünk 1:1000 hígítást a tömény kalibrátor oldatokból (pl. 5ul tömény standard-t mérjük 5ml 1x mosó-hígító pufferbe), alaposan keverjük össze (pl. Vortex-el). Helyezzük az 1000x kihígított standard pontokat az Adaltis PersonalLab standard tartó helyeire (STAND).
- A magas és alacsony kontroll mintákból készítsünk első lépésben 1:1000 hígítást a tömény kontroll oldatokból (pl. 5ul tömény kontroll mérjük 5ml 1x mintahígító pufferbe), alaposan keverjük össze (pl. Vortex-el). Helyezzük a két kihígított kalibrátort az Adaltis PersonalLab kontroll tartó helyeire (CTRL).
- A mintavételhez a Sentinel mintavevőt (FOB Gold Tube NG, Ref.11561N) használjuk. A vizsgálandó mintákból a mintavevő használati útmutatója szerint vegyünk mintát, mely mintavevő pufferben a széklet 1:250-re hígul. A minta a mintavétel és a vizsgálat között szobahőmérsékleten (20-25°C) maximum 7, hűtőben (0-+4°C) 14 napig tárolható. Öntsük át a mintavevő pufferben kihígult széklet mintákat az Adaltis PersonalLab készülék mintatartó csöveibe, majd helyezzük be a mintatartó helyre (SAMPLE).
- A konjugátumból a konjugátum hígító pufferrel készítsük el a megfelelő hígítást: anti-HgB-HSA-HRP 1:300

Pl.: 1 lemez használata esetén 50µl tömény konjugátumot hígítsunk 15ml konjugátum hígító pufferben. A kihígított konjugátum töltjük be az Adaltis PersonalLab készülék konjugátum tartójába (KONJ).

- Töltsünk a 1x mosó-hígító puffert a készülék „vak” tartó részébe (BLANK).
- Töltsük a TMB oldatot a készülék szubsztrát tartó helyére (SUBSTR)
- Töltsük a 0,25M kénsavat a készülék stop oldat tartó helyre (STOP)
- Töltsük fel az Adaltis PersonalLab automata készülék puffer tartályát 1x mosóhígító pufferrel.

2. MÉRÉS:

- Indítsuk el a mérést az Adaltis PersonalLab automata készülék használati útmutatója alapján
- A méréshez használjuk az előre megírt programokat (Protocol: Hgb-HSA, Profile: Hgb-HSA_meres)
- A program a már előkészítésnél 1000x hígított standard és a kontroll pontokat tovább hígítja 1:200-ban.
- A program a mintavető pufferben lévő széklet mintákat tovább hígítja 1:2-ben, így a minta véghígítása 1:500.
- A mérés 450nm történik 620 nm referencia hullámhossz mellett.
- A kiértékelés 4 paraméteres logisztikus értékelés a „vak” kontroll értékeivel korrigált pontokon.

3. ÉRTÉKELÉS:

- A mérés elfogadható, ha a kontrollokra kapott Hgb-HSA egyenérték a megadott értéktartományba esik (alacsony kontroll: 7ng/ml-15ng/ml; magas kontroll >20ng/ml).
- A minta pozitív, ha az így meghatározott Hgb-HSA egyenérték nagyobb, mint 10.

4. TELJESÍTMÉNY JELLEMZŐK:

4.1. Linearitás:

A kalibráló görbe regressziós egyenese az 1,56-50 ng/ml tartományban : $y = 0,4348 \ln x - 0,3569$, $R^2 = 0,994$;

4.2. Analitikai Érzékenység:

LOQ (Limit of Quantitation):0,61ng/ml, LOD (Limit of Detection):0,3ng/ml

4.3. Szenzitivitás, specificitás

A teszt diagnosztikai jellemzőinek (szenzitivitás, specificitás, prediktív) értékeit az Onkológiai Intézettől összesen kapott 200 db. székletminta mérését elvégezve a betegmintákra adott kolonoszkópiás vizsgálati eredményeket (gold standard) alapul véve határoztuk meg. Ennek alapján a teszt **szenzitivitása: 65% specificitása: 83% + Prediktív:80% - Prediktív: 69%**

4.4. Intra-assay:

Hgb-HSA lemezen (n=10)

	Hgb-HSA egyenérték átlag	CV%
1. minta	4,46	7
2. minta	5,72	5,4
3. minta	10,9	5,9
4. minta	12,3	7,7
5. minta	16,7	5,6

	Hgb-HSA egyenérték . átlag	CV%
1. minta	6,03	5,9
2. minta	11,9	6,7
3. minta	18,9	9,6

10.5. Inter-assay Hgb-HSA lemeze n (n=5)

A címkéken a következő szimbólumok találhatóak

In vitro diagnosztikai használatra



Lejárató idő (év/hónap/nap)



Tárolási hőmérséklet



A mellékelt használati utasítás szerint



Gyártási szám



Kódszám



Biológiai veszély

IRODALOM

Ottó Sz, Németh M : Duple immunochemical screening test (haemoglobin and albumin) for the detection of occult intestinal bleeding. J Clin Lab Anal 7:301-306,1993

Morrow RJ, Lawson N, Hissaini SH, et al.: The usefulness of fecal hemoglobin, albumin and α -1-antitrypsin in detection of gastrointestinal bleeding. Ann Clin Biochem 27:208-212,1990

Li SY, Zhang CL, Xu Ed, et al. Evaluation of combined test of sequential fecal occult blood and albumin in the screening of colorectal neoplazma. Zhonghua Zhongliu Zazhi 17:381-383,1995

Ottó Sz, Németh M: Screening for colorectal cancer with an immunological fecal blood test:2-year follow-up.Br J Surg 83:1480,1996 (letter)

Ottó Sz, Eckhardt S. Early detection for colorectal cancer: new aspects in fecal occult blood screening. J Surg Oncol 75:220-226,2000

Ottó Sz. A rejtett bélvérzés kimutatásának új szempontjai a vastagbél és végbélrákok szűrésében. Orvosi Hetilap 142: 1541-1545,2001

Ottó Sz. A vastag-és végbélrákok szűrése: a rejtett bélvérzés kimutatásának új stratégiája. Magyar Onkológia 45: 3-7,2001

Zhang YL,Zhang ZS,WU BP. Early diagnosis for colorectal cancer in China. World Gastroenterol 8: 21-25,2002

Sz Németh M, Ottó Sz. két antigént felismerő immunszérum előállítása és vizsgálata a rejtett bélvérzés immunkémiai kimutatásához. Magyar Onkológia 48:45-47,2004