

LKM1 IgG

Bestellnummer: LKM1-24

Antigen Chip

BlueDiver Protokoll: 02

BlueDiver Combi Referenz: 035

1 VERWENDUNGSZWECK

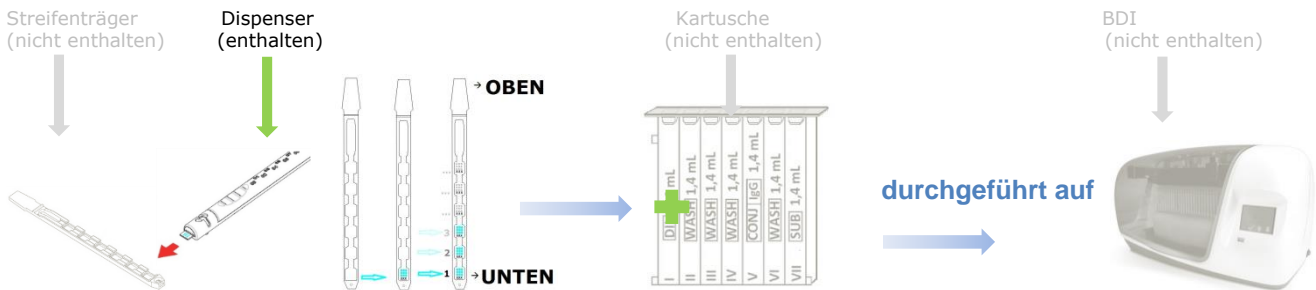
D-tec's "Combi"-System erlaubt dem Benutzer eigenständig einen Teststreifen aus verschiedenen Antigen-Chips seiner Wahl zusammenzusetzen. BlueDiver Combi LKM1 IgG ist Teil eines Immunodot-Kit. Er besteht aus einem Spender (Kunststoff), der 24 abbrechbare Antigen-Chips enthält. Im vorliegenden Fall sind die Chips für den Nachweis von IgG-Autoantikörper gegen LKM1 in menschlichen Seren bestimmt.

Mehr Informationen über die Quelle / Art der Antigene erhalten Sie über ihren jeweiligen Distributor oder über die Website www.d-tec.be.

2 TESTPRINZIP

Ein BlueDiver Combi Test erfordert: Antigen-Chip(s), Streifenträger und Reagenzienkartusche(n). Antigen-Chips müssen unabhängig von Streifenträgern und Reagenzienkartuschen bestellt werden.

Die Antigen-Chips sind in einem Spender enthalten. Jeder Spender enthält 24 abbrechbare Antigen-Chips. Der Benutzer wählt die Antigen-Chip(s) die er testen möchte und montiert sie auf einen leeren Streifenträger (ein Streifenträger pro zu testendem Patienten und bis zu 6-Antigen Chips pro Streifenträger; ACHTUNG: den Streifenträger immer von UNTEN nach OBEN bestücken !!). Die montierten Streifenträger werden zusammen mit Kartuschen eingesetzt. Jede Kartusche enthält gebrauchsfertige Lösungen für den Test (d.h. Verdünnungspuffer, Waschpuffer, Konjugat und Substrat). Der Test muss auf BlueDiver Instrument (BDI) durchgeführt werden.



Der Test beruht auf dem Prinzip eines Enzym-Immunoassays. Während der automatischen Testdurchführung inkubiert das BDI nacheinander die Streifen in den Kavitäten der gebrauchsfertigen Reagenzienkartuschen. Die Streifen werden zunächst mit verdünnten Patientenserum inkubiert. Sind humane Antikörper vorhanden, binden sie an die entsprechenden spezifischen Antigene auf der Membran. Ungebundene oder überschüssige Antikörper werden durch Waschen entfernt. Während der anschließenden Inkubation mit AP-konjugierten Antikörpern (Ziege) gegen humanes IgG bindet das Enzymkonjugat an die Antigen-Antikörper-Komplexe. Nach einem weiteren Waschvorgang zum Entfernen überschüssigen Konjugats inkubieren die Streifen in einer Substratlösung. Ist eine Enzymaktivität vorhanden, entwickeln sich purpurfarbene Dots auf den Membranstreifen. Die Intensität der Färbung ist direkt proportional zur Menge der Antikörper in der Probe.

3 PACKUNGSINHALT

1 Dispenser



enthält Σ_{24} x Σ_{24} (abbrechbare Antigen-Chips)



4 ERFORDERLICHE INSTRUMENTE / MATERIALIEN, NICHT ENTHALTEN

Reagenzienkartuschen, leere Streifenträger, BDI (mindestens Software-Version 85), Dr DOT Software (mindestens Version 3.7), Mikropipetten, Laborhandschuhe, Element zum Einführung von Antigen-Chips in den Streifenträger (optional).

5 LAGERUNG

Der Spender soll bei einer Temperatur zwischen +2 °C bis +8 °C gelagert werden. Nicht einfrieren. Nach dem Öffnen muss der Spender bei +2 °C bis +8 °C und vor Sonnenlicht geschützt, vorzugsweise im Aluminiumbeutel und der Originalverpackung gelagert werden. Bei sachgemäßer Lagerung ist diese Testkit-Komponente bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

6 VORSICHTSMAßNAHMEN

Der Dispenser ist nur für "In-vitro" diagnostische Zwecke bestimmt und darf nur von Fachpersonal verwendet werden. Der Dispenser enthält potentiell gesundheitsschädliche Komponenten; Kontakt mit Haut, Augen oder Schleimhäuten muss vermieden werden. Patientenproben sollten immer als potentiell infektiös behandelt werden.

Entsorgung: Patientenproben und inkubierte Teststreifen sowie Kartuschen sollten als infektiöser Abfall behandelt werden. Andere Reagenzien müssen nicht separat gesammelt werden, sofern nicht anders in behördlichen Vorschriften angegeben sind.

D-TEK s.a. und seine autorisierten Distributoren haften nicht für Schäden, die indirekt oder als Folge durch Abwandlung oder Modifikation des Verfahrens resultieren.

In jedem Fall sollten die GLP mit allen allgemeinen und besonderen Vorschriften für die Verwendung dieses Kits angewendet werden

7 ENTNAHME, HANDHABUNG UND LAGERUNG DER PROBEN

Serum oder Plasma können in diesem Test benutzt werden. Blutproben können in trockenen Röhrchen oder in Röhrchen mit EDTA, Heparin oder Citrat abgenommen werden. Nach der Abtrennung können die Serum- oder Plasmaproben bis zu drei Tagen bei 2-8 °C aufbewahrt werden. Für eine längere Lagerung müssen sie bei -20°C eingefroren werden. Vermeiden Sie wiederholtes Auftauen und Einfrieren. Nach dem Auftauen die Proben gut mischen, um Probenhomogenität zu gewährleisten.

8 TESTVERFAHREN

GRUNDLEGENDE INFORMATIONEN, HANDHABUNG UND TIPPS:

Testprinzip:

Nur Chips/Kits mit gleicher Protokoll-Nummer können gleichzeitig auf dem BDI verarbeitet werden (d.h. sowohl Kits der BlueDiver Quantrix / BlueDiver Dot Reihe als auch Chips der BlueDiver Combi-Reihe). Die Protokoll-Nummer finden Sie auf Seite 1 (unter der Bestellnummer).

Nachdem Streifenträger manuell mit Chip(s) bestückt worden sind, können sie mit Reagenzienkartuschen in das BDI geladen werden. Das BDI führt die Inkubations- und Waschschriffe automatisch aus. Durch kontinuierliches Auf- und Abbewegen der Streifen in den Kavitäten der gebrauchsfertigen Reagenzienkartuschen sorgt das BDI für eine effiziente Zirkulation der Flüssigkeiten über die Streifen. Der gesamte Testablauf erfolgt bei Raumtemperatur.

STREIFENTRÄGER Beschreibung:

Die reaktive (Vorder-)Seite des Streifenträgers zeigt die mit Antigenen beschichtete Seite der Chips auf; diese Dots erscheinen schwach blau. Diese Färbung stellt sicher, dass alle Antigene richtig auf die Membran aufgebracht sind; sie verschwindet im weiteren Testverlauf.

Auf der Vorderseite des Streifens befindet sich außerdem unter den 3 Dot-Reihen die BlueDiver Combi Referenz (siehe auch Seite 1 unter der Bestell- und Protokoll-Nummer).

ACHTUNG: den Streifenträger immer von UNTEN nach OBEN bestücken!!



Die nicht reaktive (Rück-) Seite der Streifenträger weist 2-dimensionale Barcode-Quadrate für jeden Antigen-Chip auf. Dies gewährleistet die Rückverfolgbarkeit der Antigen-Chips nach ihrer Entnahme aus dem BDI am Ende des Tests.



Bevor der automatische Prozess startet, müssen die Streifenträger von Hand in den dafür vorgesehenen Streifenträger eingesetzt werden (siehe Testvorbereitung unter Pkt. 8.1.4). Während dieses Vorgangs auf keinen Fall die Membranzonen der Streifen mit den Fingern berühren. Tragen Sie immer Laborhandschuhe und halten Sie die Streifen nur an den vorgesehenen Kunststoffteilen.

REAGENZIENKARTUSCHEN Beschreibung:

Die Reagenzienkartuschen bestehen aus 7 verschiedenen Kavitäten, die mit gebrauchsfertigen Reagenzien befüllt sind. Die Kartuschen sind versiegelt, und die Reagenzienkavitäten sind hermetisch voneinander getrennt. Die Versiegelung muss vor Beginn des Tests entfernt werden. Nach dem Öffnen die Kartuschen mit Sorgfalt handhaben, um die Reagenzien nicht zu verschütten und Kavitäten nicht zu kontaminieren.

Die Rückseite der Kartuschen ist zur Identifikation des Kartuschentyps und der Charge durch das BDI mit alphanumerischen und Strichbarcode-Informationen versehen.

Bevor der automatische Prozess startet, müssen die Kartuschen von Hand in den dafür vorgesehenen Kartuschenhalter gesteckt werden (siehe Testvorbereitung unter Pkt. 8.1.10). Die Vorderseite der Kartuschen hat eine dreieckige Unterseite, die Rückseite jeweils zwei quadratische Kunststoffkanten (unten und oben), die eine sichere Positionierung und Ausrichtung in der Halterung ermöglichen.

8.1 Testvorbereitung

- Alle Kitkomponenten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18 °C bis 25 °C) bringen..
- Ein Arbeitsprotokoll (entweder mittels Dr DOT Software oder extern) sollte erstellt werden, um die Beladung und richtige Zuordnung der Antigen-Chips, Streifen, Kartuschen und Patientenproben zu gewährleisten.
- Stellen Sie sicher, dass der Kartuschenhalter korrekt im BDI befestigt ist.
- Stellen Sie sicher, dass das BDI angeschlossen ist.
- Stellen Sie sicher, dass alle zu verarbeitenden Tests die gleiche Protokoll-Nummer haben.

Die folgenden Punkte beschreiben Beladung und Vorbereitung des BDI mit Teststreifen, Reagenzienkartuschen und Patientenproben vor Testbeginn. Für detaillierte Informationen oder im Falle eines Problems bezüglich der hiernach aufgeführten Schritte greifen Sie bitte auf das Nutzungshandbuch des BDI zurück.

1. Das BDI einschalten und einige Sekunden warten, bis das Datum und die Uhrzeit auf dem Touchscreen angezeigt werden.
2. Datum und Uhrzeit durch Drücken der Taste ✓ auf dem Touchscreen bestätigen. (Bei Erstbenutzung oder für Reset bitte auf das Nutzungshandbuch des BDI zurückgreifen) → Es wird "Initialisieren?" auf dem Bildschirm angezeigt.
3. Initialisierung durch Drücken der Taste ✓ auf dem Touchscreen bestätigen → Der horizontale Arm des BDI bewegt sich automatisch nach vorne, um eine zentrale Position (Stand-by) einzunehmen → "Streifen laden(24)" wird auf dem Bildschirm angezeigt.
4. (Bitte hier weder die Streifenanzahl eingeben noch bestätigen). Den Streifenträger aus dem Trägerarm herausnehmen, indem Sie ihn vorsichtig nach oben drücken; nun den Streifenträger mit den zu testenden Streifen bestücken. Bitte halten Sie den Streifenträger mit der nummerierten Seite nach oben (offene Position), und setzen Sie die Streifen mit der nummerierten (reaktiven) Seite nach oben ein. Der obere Kunststoffteil (Zunge) rutscht in die vorgesehene Bohrung des Streifenträgers. Durch leichten Druck sicherstellen, dass die Kunststoffzunge das untere Ende der Bohrung erreicht hat.

Achtung:

- Die Beladung der Streifen immer in der 1. Position des Streifenträgers (linke Seite) beginnen und keine Leerräume zwischen den Streifen lassen!
- Nach vollständiger Beladung des Streifenträgers bitte visuell die vertikale, horizontale und seitliche Ausrichtung der Streifen überprüfen. Eine offensichtliche Fehlausrichtung sollte durch erneutes Beladen des Streifenträgers korrigiert werden.
- Etwaige Plastikteilchen können nach dem Abbrechen in individuelle Streifen übrig bleiben, was das Verarbeiten im BDI und/oder das Lesen mit dem BlueScan beeinträchtigen könnte; diese Plastikteilchen sollten mit einer Schere entfernt werden.

5. Den Streifenträger in seine Position auf dem Trägerarm zurücksetzen, indem er vorsichtig von oben nach unten gedrückt wird.
6. Die Anzahl der eingesetzten Streifen mit dem Aufwärts- und Abwärtspeil einstellen.
7. Die Anzahl der eingesetzten Streifen durch Drücken der Taste ✓ auf dem Touchscreen bestätigen → der horizontale Arm bewegt sich automatisch nach hinten und bleibt über den viereckigen Öffnungen, die hinten auf dem Kartuschenhalter angebracht sind, stehen → "Ausrichtung prüfen" wird auf dem Touchscreen angezeigt.
8. Mit der "JOG"-Funktion auf dem Bildschirm die korrekte Ausrichtung der Streifen überprüfen: Einen leichten Druck auf den Abwärtspeil des Touchscreen aufrechterhalten, bis die Streifen ihre jeweilige Ausrichtungsöffnung auf dem Kartuschenhalter passieren. Ist alles richtig justiert, berühren die Streifen nicht die Umriss der Ausrichtungsöffnung.
Achtung: Bei schlechter Justierung (Kontakt der Streifen mit der Ausrichtungsöffnung) bitte auf das Nutzungshandbuch des BDI zurückgreifen
9. Bestätigung der korrekten Ausrichtung der Streifen durch Drücken der Taste ✓ auf dem Touchscreen → Das BDI senkt die Streifen vollständig in die Ausrichtungsöffnung und liest die Barcodes der Streifen.
Achtung: BlueDiver Combi Streifen können nicht vom BDI gelesen werden, deshalb leuchtet das LED-Lämpchen nicht auf. Nach dem Lesevorgang erscheint "Kartuschen laden" auf dem Touchscreen
10. Die Reagenzienkartuschen entsiegeln und sie unterhalb der entsprechenden Streifen in die vorgesehenen Einkerbungen der Kartuschenhalterung stellen.
11. Die komplette Beladung durch Drücken der Taste ✓ auf dem Touchscreen bestätigen → Das BDI liest die Barcodes der Kartuschen → Nach vollständigem Einlesen des Barcodes wird die Anzahl der Streifen auf dem Bildschirm angezeigt. Das BDI identifiziert die Positionen von BlueDiver Combi Streifen anhand der spezifischen Kartuschen-Barcodes; LED Lämpchen leuchten jetzt an dieser Stelle auf.
Achtung: Kann das BDI einen oder mehrere Barcodes der Kartuschen nicht lesen, greifen Sie zur Problembeseitigung auf das Nutzungshandbuch des BDI zurück.
12. Die Anzahl der Streifen durch Drücken der Taste ✓ auf dem Touchscreen bestätigen → Die mittels Barcode identifizierte Protokoll-Nummer wird auf dem Bildschirm (Protokoll-ID xx.) angezeigt.
13. Die Protokoll-Nummer durch Drücken der Taste ✓ auf dem Touchscreen bestätigen → "Bitte Haube schließen" wird auf dem Bildschirm angezeigt.
14. Die Haube des BDI schließen und das Schließen durch Drücken der Taste ✓ auf dem Touchscreen bestätigen → Das BDI startet mit einem ersten Waschschriff (Vorbehandlung der Streifen). Die Streifen inkubieren für 1 Minute in der 2. Kavität. → Nach Beendigung des Benetzungsschrittes wird "Bitte Haube öffnen" auf dem Bildschirm angezeigt.

15. Die Haube des BDI öffnen und das Öffnen durch Drücken der Taste ✓ auf dem Touchscreen bestätigen → der horizontale Arm bewegt sich automatisch nach vorne und schwingt die Streifen in Schrägstellung nach vorne → "Streifen trocknen" erscheint auf dem Bildschirm.
16. Saugfähiges Papier nehmen und die Flüssigkeit von der von der Probenkavität am Ende des Kunststoffträgers vorsichtig abtupfen.
17. Das Trocknen durch Drücken der Taste ✓ auf dem Touchscreen bestätigen → "Proben eingeben" wird auf dem Bildschirm angezeigt.
18. 10 µL Patientenserum / -plasma in die Probenkavitäten des Kunststoffträgers pipettieren.
Die 10µl Patientenserum können (falls bevorzugt) auch direkt in den Probendiluent (Kavität I der Kartusche) einpipetiert werden. Diese Operation kann jederzeit nach Öffnen der Kartuschen (Punkt 10) durchgeführt werden.
19. Das Aufbringen der Proben durch Drücken der Taste ✓ auf dem Touchscreen bestätigen → Es wird "Bitte Haube schließen" auf dem Bildschirm angezeigt.
20. Die Haube des BDI schließen und das Schließen durch Drücken der Taste ✓ auf dem Touchscreen bestätigen → Das BDI startet den Test automatisch und folgende Schritte werden ausgeführt (Protokoll 02):

8.2 Testdurchführung (Protokoll 2)

| Schritt | Beschreibung | Arbeitszeit |
|---------|--|-------------|
| 01. | Die Streifen werden in der 1. Kavität der Kartusche inkubiert (Probendiluent). Durch den Kontakt mit Flüssigkeit und durch Auf- und Abbewegung des Streifens werden die vorpipettierten Patientenproben (Pkt. 8.1.18) von der Probenkavität gelöst und in das Probendiluent freigesetzt. | 30 min |
| 02. | Der Probenträger bewegt sich nach vorne und die Streifen inkubieren in der 2. Kavität der Kartusche (Waschpuffer) | 2 min |
| 03. | Der Probenträger bewegt sich nach vorne und die Streifen inkubieren in der 3. Kavität der Kartusche (Waschpuffer) | 2 min |
| 04. | Der Probenträger bewegt sich nach vorne und die Streifen inkubieren in der 6. Kavität der Kartusche (Waschpuffer) | 2 min |
| 05. | Der Probenträger bewegt sich nach hinten und die Streifen inkubieren in der 5. Kavität der Kartusche (Konjugat) | 10 min |
| 06. | Der Probenträger bewegt sich nach hinten und die Streifen inkubieren in der 4. Kavität der Kartusche (Waschpuffer) | 2 min |
| 07. | Der Probenträger bewegt sich nach hinten und die Streifen inkubieren in der 3. Kavität der Kartusche (Waschpuffer) | 2 min |
| 08. | Der Probenträger bewegt sich nach hinten und die Streifen inkubieren in der 2. Kavität der Kartusche (Waschpuffer) | 2 min |
| 09. | Der Probenträger bewegt sich nach vorne und die Streifen inkubieren in der 7. Kavität der Kartusche (Substrat) | 10 min |
| 10. | Der Probenträger bewegt sich nach hinten und die Streifen inkubieren in der 6. Kavität der Kartusche (Waschpuffer) | 2 min |

Nach Beendigung des Testablaufs hält der Streifenträger in einer Zentralposition (Stand-by) inne, um eine einfache Handhabung des Streifenträgers zu ermöglichen. Das BDI gibt einen Signalton und "Test beendet" wird auf dem Bildschirm angezeigt. Mit saugfähigem Papier vorsichtig die Restflüssigkeit von der Probenkavität entfernen. Streifen 30 Minuten trocknen lassen und Ergebnisse auswerten. Achtung: Das Auswerten muss innerhalb 24 Stunden nach Testablauf erfolgen.
Wird der BlueScan zur Interpretation der Ergebnisse verwendet, bitte die abgearbeiteten Streifen im Streifenträger lassen.

Datenregistrierung

Das Testprotokoll kann man durch Drücken des USB-Stick-Symbols herunterladen, indem man den Hinweisen auf dem Bildschirm folgt. (Insert USB → Writing USB → Remove USB).

Dieser Schritt ist nicht zwingend erforderlich, wird aber dringend für die Rückverfolgbarkeit und zur Dokumentation empfohlen

9 AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgt mit der Dr DOT Software und dem Scanning-System.

Weitere Informationen zur Dr DOT erhalten Sie über Ihren Distributor oder über die Website www.d-tek.be

NB: Dr DOT Software ist nur eine Auswertesoftware **zur Unterstützung der Interpretation**. Die endgültige, klinische Interpretation muss durch einen Arzt erfolgen.

1. Den Streifenträger aus dem BDI nehmen und die abgearbeiteten Streifen im Streifenträger belassen.
2. Den Streifenträger mit der reaktiven Seite der Streifen nach unten in die dafür vorgesehene Position des BlueScan-Scanners einlegen.
3. Das Scannen der Streifen mit der Dr DOT Software starten.
Detaillierte Informationen über das BlueScan-System und die Dr DOT Software erhalten Sie im Nutzungshandbuch Ihrer Dr DOT Software.

9.1 Antigen-Ergebnisse

Jeder Antigen-Chip enthält eine integrierte **Positive** und **Negative (Cut-Off) Kontrolle**, die in Triplikatformat aufgetragen worden sind; die DrDOT Software misst den Mittelwert der Farbintensität des Antigen-Triplikates und vergleicht diesen mit der der Negativen(Cut-Off) Kontrolle

POSITIVES ERGEBNIS:

Eine Probe ist für einen spezifischen Antikörper positiv, wenn der Wert des entsprechenden Antigendot-Triplikates **höher ist** als der des Cut-off -Triplikates.
In der Darstellung des Ergebnisses markiert die Dr DOT Software ein positives Ergebnis und zeigt den berechneten numerischen Wert in Klammern an



----> RC Positive Kontrolle
----> Antigen
----> CO - Negative Kontrolle

NEGATIVES ERGEBNIS:

Eine Probe ist für einen spezifischen Antikörper negativ, wenn der Wert des entsprechenden Antigendot-Triplikates **schwächer oder gleich stark** ist wie der des Cut-off-Triplikates.



----> RC Positive Kontrolle
----> Antigen
----> CO - Negative Kontrolle

| DrDOT arbiträre Einheiten (AU) | Interpretation |
|--------------------------------|----------------|
| < 5 | Negativ |
| 5 - 10 | equivokal (*) |
| >10 | Positiv |

* Niedrige Autoantikörper-Titer können bei gesunden Patienten auftreten. Aus diesem Grund sollten niedrig-positive Ergebnisse (zwischen 5 und 10 AU), obgleich gültig, als equivokal (zweideutig) betrachtet werden. Erneutes Testen des Patienten, vorzugsweise unter Verwendung einer neuen Probe, wird daher empfohlen. Sollte das Ergebnis nach erneutem Testen immer noch zweideutig sein, müssen andere diagnostische Tests und / oder klinische Informationen vorgenommen werden, um den autoimmunen Zustand des Patienten zu bestimmen.

10 TESTCHARAKTERISTIK

10.1 Reproduzierbarkeit

Referenzkontrollproben wurden für jeden Antikörper in statistisch relevanten Wiederholungen innerhalb eines Laufs oder über mehrere Läufe für die Berechnung der Intra- und Inter-Assay-Variation getestet. Die Intensität der Dots war immer innerhalb des spezifizierten Bereichs, und die Standardabweichung betrug weniger als 10%. (Detaillierte analytische Daten sind auf Anfrage erhältlich.)

10.2 Sensitivität and Spezifität

Charakteristische Proben (durch Referenzlaboratorien und/oder –methoden bestätigte positive oder negative Proben der jeweiligen Antikörper) wurden entsprechend der Arbeitsanleitung getestet. Sensitivität und Spezifität wurden anhand der DrDOT Resultate berechnet.

| | | LKM1 | |
|---|-----------------|--------------|-----------------------|
| | | + | - |
| + | richtig positiv | 30 | falsch positiv 0 |
| | falsch negativ | 0 | richtig negativ 62 |
| | | Sensitivität | 100% |
| | | Spezifität | 100% |

11 TESTEINSCHRÄNKUNGEN

1. Eine klinische Diagnose sollte keinesfalls auf der Grundlage einer In-vitro-diagnostischen Methode vorgenommen werden.
2. Eine vollständige klinische Untersuchung sowie andere Laboruntersuchungen sollten für die Diagnose berücksichtigt werden, da keine Technik allein die Möglichkeit eines falsch-positiven oder falsch-negativen Ergebnisses ausschließen kann. Aus diesem Grund sollte deshalb vor allem ein indirekter Immunfluoreszenztest – falls vorhanden- parallel zur Bestimmung der Autoantikörper mittels BlueDiver Dot durchgeführt werden. In der Regel wird die Immunfluoreszenz häufig als Goldstandard für Screening von Autoimmunerkrankungen betrachtet.
3. D-tec s.a. und seine autorisierten Verteiler sind nicht haftbar für Schäden, die aus einer Änderung im angezeigten Verfahren resultieren. Der Kit sollte nur von geschultem Laborpersonal durchgeführt werden.
4. Die Grundsätze der GLP («Gute Labor Praxis») sollten durchgehend angewendet werden.
5. D-tecs Verbindlichkeit ist in jedem Fall auf den kostenlosen Ersatz des Kits begrenzt.