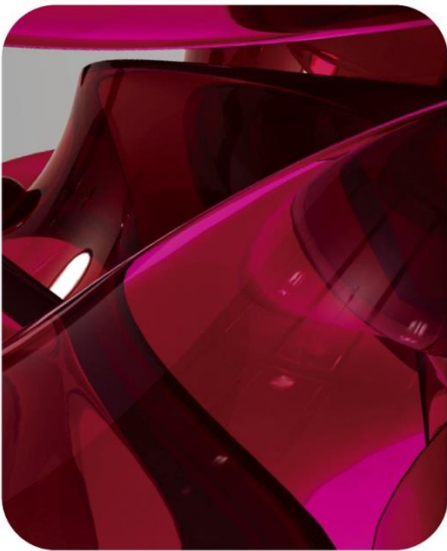




AESKU. DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKUBLOTS[®]
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKUBLOTS[®] Gastro Pro
Ref 4005



Product Ref.	4005
Product Desc.	Gastro Pro
Manual Rev. No.	007 : 2016-11-02

Istruzioni per l'uso

Indice dei contenuti

1	Usò previsto.....	1
2	Applicazione clinica e principio del test.....	1
3	Contenuto del kit.....	2
4	Conservazione e stabilità.....	2
5	Precauzioni per l'uso e considerazioni generali.....	3
6	Raccolta, manipolazione e conservazione dei campioni	4
7	Procedura del test.....	4
8	Interpretazione qualitativa	7
9	Dati tecnici	7
10	Performance del test.....	8
11	Bibliografia	8



AESKU.DIAGNOSTICS GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim, Germany
Tel: +49-6734-9622-0
Fax: +49-6734-9622-2222
Info@aesku.com
www.aesku.com

1 Uso previsto

AESKUBLOTS® Gastro Pro è un test immunoenzimatico su membrana per la rilevazione qualitativa di anticorpi IgG e IgA diretti contro gliadina, tTg neo-epitope, mannani (ASCA), contro l'antigene delle cellule parietali e il fattore intrinseco nel siero. Gli antigeni sono fissati secondo linee parallele in posizioni ben definite su una membrana di nitrocellulosa.

Il test è uno strumento per la diagnosi della celiachia, dell'anemia perniciosa e di patologie infiammatorie dell'intestino.

2 Applicazione clinica e principio del test

Ogni tratto dell'apparato gastrointestinale può essere colpito da malattie gastrointestinali autoimmuni. Tali malattie sono spesso diagnosticate anni dopo la comparsa dei primi sintomi e in molti casi hanno un decorso grave.

I soggetti celiaci spesso hanno una carenza di IgA. Al fine di escludere risultati falso negativi, questo test mira a identificare gli anticorpi IgA e IgG.

Anticorpi:

- la gliadina è caratteristica della celiachia. Gli anticorpi di tipo IgA sono essenzialmente specifici della celiachia. Gli anticorpi di tipo IgG si riscontrano nel 40-50 % dei soggetti affetti dalla malattia di Crohn e anche nel 10-20 % dei soggetti affetti da colite ulcerosa.
- Il neo-epitopo tTg (Neo-tTg; transglutaminasi tissutale reticolata con peptidi di gliadina) è un marcatore affidabile della celiachia e della dermatite erpetiforme (dermatite di Duhring). Data la somiglianza strutturale con gli epitopi fisiologici, gli anticorpi verso i neo-epitopi tTg mostrano una maggiore sensibilità e specificità rispetto agli anticorpi anti-tTg (sensibilità del 98-100%; specificità del 93-96%).
- I mannani (ASCA) hanno una specificità del 97 % per la malattia di Crohn. Essi sono fondamentali per la diagnosi differenziale della malattia di Crohn e della colite ulcerosa. Contrariamente ai soggetti con colite ulcerosa, il 75 % di quelli affetti dalla malattia di Crohn evidenzia un elevato livello di anticorpi.
- Le cellule parietali possono essere identificate per mezzo del test a immunofluorescenza nell'80-90 % dei soggetti affetti da anemia perniciosa, ma si riscontrano anche nel 2-5 % degli individui sani. Si riscontrano anche in soggetti affetti da malattie endocrine autoimmuni e da gastrite atrofica cronica di tipo A.
- Il fattore intrinseco evidenzia, per l'anemia perniciosa, una sensibilità del 50-70 % con una specificità del 100 % in una popolazione di donatori di sangue sani. Questi anticorpi si riscontrano anche in soggetti affetti da malattie tiroidee autoimmuni e da gastrite atrofica cronica di tipo A.

Principio del test

Gli antigeni sono fissati, in linee parallele, su una membrana di nitrocellulosa. La membrana è stabilizzata per evitare reazioni aspecifiche. Le strisce di membrana con gli specifici antigeni, fissati in posizioni ben definite, vengono incubate in campioni di siero diluiti con un rapporto di 1:101. Gli anticorpi del soggetto, se presenti nel campione, si legano con l'antigene. La frazione non legata viene eliminata tramite lavaggio nella fase seguente. Successivamente le immunoglobuline anti-umane, coniugate con perossidasi di rafano (coniugata), vengono incubate e reagiscono con il complesso anticorpo-antigene dei campioni. Il coniugato non legato viene eliminato tramite lavaggio nella fase seguente. L'aggiunta del substrato TMB provoca una reazione enzimatica che lo converte in un precipitato di colore blu. La reazione viene bloccata con acqua distillata.

3 Contenuto del kit

DA RICOSTITUIRE PRIMA DELL'USO				
Componente	Quantità	Colore del tappo	Colore della soluzione	Descrizione / Contenuto
Reagente bloccante	3 da 10 ml di concentrato ciascuno	bianco	Nds	Latte in polvere secco non-grasso per la preparazione di 3 tamponi campione da 10 ml
Tampone di lavaggio (20x)	1 x 50 ml	bianco	incolore	20 volte concentrato per la preparazione di 1 litro di tampone TRIS, pH 6,9 ± 0,2
PRONTO ALL'USO				
Componente	Quantità	Colore del tappo	Colore della soluzione	Descrizione / Contenuto
IgG, coniugato	1 x 10 ml	blu	incolore	Immunoglobulina G anti-umana (IgG) coniugata con perossidasi di rafano
IgA, coniugato	1 x 10 ml	rosso	incolore	Contenente: immunoglobulina A anti-umana (IgA) coniugata con perossidasi di rafano
Substrato TMB	1 x 10 ml	nero	incolore	TMB stabilizzato /H ₂ O ₂
Strip di membrana	24 strip	codice colore: nero	Nds	Per gli antigeni rivestiti si rimanda all'Uso previsto
pinzette, modello di riferimento, tabella di valutazione, striscia adesiva (biadesiva, nera)	1 pezzo ciascuno	Nds	Nds	Nds
vaschetta d'incubazione	3 pezzi	Nds	Nds	Nds
Etichette per tampone campione	3 pezzi	Nds	Nds	Nds
MATERIALE OCCORRENTE, MA NON FORNITO NEL KIT				
piastra oscillante, bombola da 1000 ml, pipetta o bombola da 10 ml, pipette di precisione (10, 1000 µl), carta assorbente o filtrante. I nostri test sono concepiti per essere eseguiti con acqua depurata, conformemente alle disposizioni della Farmacopea degli Stati Uniti (USP 26 - NF 21) e della Farmacopea Europea (Eur.Ph. 4a ed.).				

4 Conservazione e stabilità

Conservare tutti i reagenti e le strip di membrana ad una temperatura di 2÷8 °C/35÷46°F nei rispettivi contenitori originali. Una volta preparate, le soluzioni ricostituite sono stabili a 2-8°C/35-46°F per almeno sei settimane. Reagenti e strip devono essere utilizzati entro la data di scadenza indicata sulla confezione. Non utilizzare i componenti dopo la data di scadenza indicata. Evitare di esporre la soluzione TMB a fonti di luce intensa.

5 Precauzioni per l'uso e considerazioni generali

5.1 Dati sulla sicurezza

Questo prodotto è per esclusivo uso DIAGNOSTICO IN VITRO. Pertanto, il kit è destinato esclusivamente a personale di laboratorio altamente qualificato e specializzato in metodologie di diagnostica in vitro. Sebbene questo prodotto non sia considerato particolarmente tossico o pericoloso nelle normali condizioni d'uso previsto, occorre attenersi a quanto segue per operare in massima sicurezza:

Avvertenze e precauzioni

Questo kit contiene componenti potenzialmente pericolosi. Sebbene i reagenti contenuti nel kit non siano classificati come irritanti per gli occhi e la cute, si raccomanda di evitare qualsiasi contatto con occhi e cute e di indossare guanti monouso.

Il substrato contiene caton (1% v/v) come conservante. Non deve essere ingerito e non deve venire a contatto con la cute o le mucose.

Quando si utilizza il kit si raccomanda di non fumare, di non mangiare e di non bere. Non pipettare con la bocca.

Trattare i campioni clinici come potenzialmente infetti, quindi nel totale rispetto delle normative nazionali vigenti.

5.2 Indicazioni generali per l'uso

Un codice colore, posizionato sopra la linea di riferimento delle strip, contraddistingue i vari test **AESKUBLOTS®** disponibili:

Codice colore	AESKUBLOTS®
giallo	ANA-12 Pro
arancione	ANA-17 Pro
blu	Myositis Pro
marrone	Liver Pro
porpora	Vasculitis Pro
nero	Gastro Pro
verde	Borrelia-G e Borrelia-M

Se le informazioni contenute sul prodotto, etichette incluse, risultassero inesatte, contattare il produttore o il fornitore del kit.

Il reagente bloccante e il tampone di lavaggio sono interscambiabili tra lotti di kit differenti. Tutti gli altri componenti si intendono specifici di ogni singolo kit e pertanto non sono interscambiabili. Non si devono scambiare le componenti tra test di autoimmunità e diagnostica per Borrelia!

Per manipolare il coniugato non utilizzare recipienti in polistirene.

Prima dell'uso portare tutti i componenti a temperatura ambiente (20-32°C/68-89,6°F), miscelare bene e seguire lo schema di incubazione prescritto per una performance ottimale del test.

Non esporre mai i componenti ad una temperatura superiore a 37°C/ 98,6°F.

Pipettare la soluzione del substrato sempre ed esclusivamente con puntali nuovi. Proteggere questo reagente da fonti luminose. Non pipettare mai il coniugato con puntali utilizzati precedentemente per altri reagenti.

L'intensità del colore di banda non è necessariamente correlata ai titoli di un anticorpo rilevati con altre metodologie di riferimento.

Campioni provenienti da donatori di sangue apparentemente sani possono contenere autoanticorpi.

Se il campione clinico contiene livelli elevati di complessi immuni o di altri aggregati di immunoglobuline, non sarà possibile escludere risultati falso positivi per mezzo di un legante non-specifico.

Una diagnosi clinica definitiva non dovrebbe basarsi esclusivamente sui risultati del test condotto, che dovrebbe essere richiesto dal medico solo dopo aver valutato tutte le analisi cliniche e di laboratorio. La diagnosi deve essere verificata utilizzando metodologie diagnostiche differenti.

6 Raccolta, manipolazione e conservazione dei campioni

Utilizzare preferibilmente campioni di siero freschi. Il prelievo di sangue deve essere effettuato secondo le normative nazionali vigenti. Non utilizzare campioni itterici, lipemici, emolizzati o contaminati da batteri. Sieri contenenti particelle devono essere separati, utilizzando una centrifuga a bassa velocità (<1000 giri). I campioni di sangue devono essere raccolti in provette pulite, asciutte e vuote.

Dopo la separazione, i campioni di siero devono essere utilizzati entro le 8 ore successive. In caso contrario, possono essere conservati in flaconi a chiusura ermetica a 2-8°C/35-46°F per un massimo di 48 ore, oppure congelati a -20°C/-4°F per periodi più lunghi. Evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti. Non utilizzare campioni riscaldati perciò inattivati.

7 Procedura del test

7.1 Preparazione preliminare

Verificare che non si siano formati cristalli di sale nel concentrato. In caso contrario occorre sciogliere i cristalli scaldando leggermente il concentrato (la temperatura ambiente dovrebbe essere sufficiente).

Diluire il tampone di lavaggio concentrato a 1:20 con acqua distillata (ad es. 950 ml + 50 ml).

Per la preparazione del tampone campione: aggiungere 10 ml del tampone di lavaggio ad un flacone di Reagente bloccante e miscelare bene.

7.2 Fasi del test

Indicazioni importanti:

Seguire esattamente questo protocollo. Assicurarsi che i due componenti citati nel protocollo vengono aggiunti al vassoio in fasi 2, 6, 9.

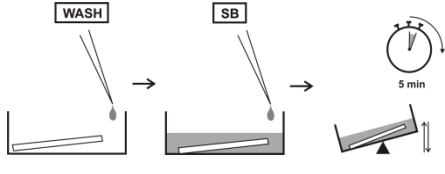
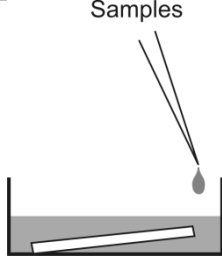
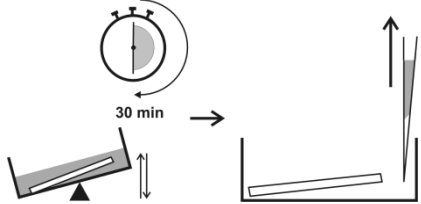
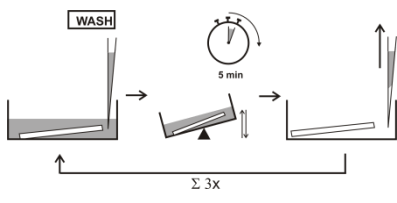
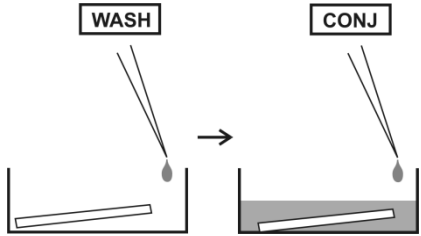
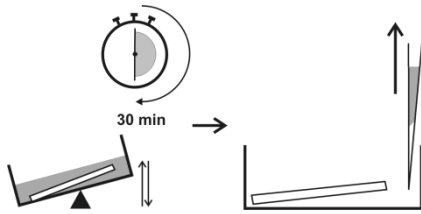
Evitare che la strip si asciughi durante le fasi di incubazione.

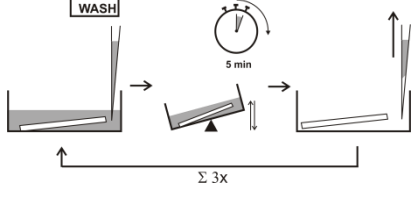
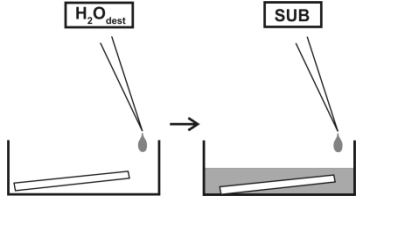
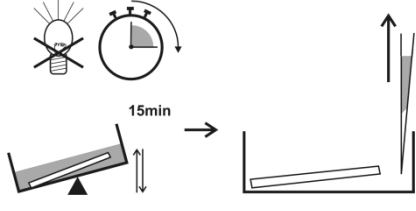
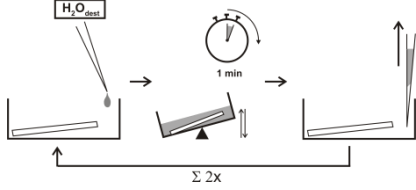
Non afferrare la strip con le dita, utilizzare le pinzette.

Rimuovere i campioni diluiti subito dopo l'incubazione, per evitare il prolungarsi dell'azione.

Agitare costantemente la strip durante le fasi di incubazione.

Collocare il tampone campione, il coniugato e il substrato unitamente con il tampone di lavaggio su un lato della vaschetta d'incubazione. Non contaminare la striscia.

Fase	Descrizione
1.	Prima di iniziare il test assicurarsi che le preparazioni, dalla fase 7.1 descritta sopra, siano state eseguite.
2.	 <p>Posizionare correttamente la strip nella vaschetta d'incubazione (linea di riferimento e codice colore rivolti verso l'alto). Dispensare 700 µl di tampone di lavaggio e 300 µl di tampone campione nella vaschetta d'incubazione. Inumidire la strip con la soluzione e incubare per 5 minuti agitando bene.</p>
CONTROLLI E CAMPIONI	
3.	 <p>Pipettare 10 µl di campione di siero nei pozzetti predisposti della vaschetta d'incubazione con il tampone campione.</p>
4.	 <p>Incubare per 30 minuti a 20-32°C/68-89,6°F, agitando bene. Dopodiché rimuovere completamente il campione.</p>
5.	 <p>Lavare 3 volte per 5 minuti con 1,5 ml di tampone di lavaggio, agitando bene. Rimuovere il tampone di lavaggio dopo ogni fase di lavaggio.</p>
CONIUGATO	
6.	 <p>Pipettare 700 µl di tampone di lavaggio e 300 µl di coniugato in ogni vaschetta d'incubazione con la strip.</p>
7.	 <p>Incubare per 30 minuti a 20-32°C/68-89,6°F, agitando bene. Rimuovere il coniugato.</p>

8.		<p>Lavare 3 volte per 5 minuti con 1,5 ml di tampone di lavaggio, agitando bene. Rimuovere il tampone di lavaggio dopo ogni fase di lavaggio.</p>
SUBSTRATO		
9.		<p>Pipettare 700 µl di dH₂O e 300 µl di substrato in ogni vaschetta d'incubazione con la strip.</p>
10.		<p>Incubare per 15 minuti a 20-32°C/68-89,6°F, agitando bene, al riparo da fonti luminose intense. Rimuovere il substrato.</p>
STOP		
11.		<p>Pipettare 2 ml di dH₂O in ogni vaschetta d'incubazione con la strip. Incubare per 1 minuto, agitando bene. Rimuovere dH₂O. Replicare una volta.</p>
12.	<p>Rimuovere la strip dalla vaschetta d'incubazione. Asciugare la strip con carta assorbente</p>	
13.	<p>Analizzare i risultati entro 24 ore.</p>	

8 Interpretazione qualitativa

8.1 Analisi manuale

I risultati del test possono considerarsi validi se:

- è visibile un controllo funzionale
- è visibile un controllo cut-off
- l'intensità del colore del controllo cut-off è più debole di quella del controllo funzionale

Incollare la strip asciutta sulla tabella di valutazione, allineandola alla linea di riferimento. Allineare il modello di riferimento alla linea di riferimento della strip. Interpretare i risultati facendo riferimento esclusivamente al controllo cut-off di ciascuna strip.

Ogni kit contiene una copia colore di tutte le bande disponibili nel test.

L'analisi viene effettuata comparando l'intensità di colore delle bande con l'intensità di colore del controllo cut-off. Il test è dubbio se le intensità di colore non si discostano in modo significativo l'una dall'altra. Se il colore è più intenso il risultato del test è positivo, se l'intensità del colore è più debole il test è negativo.

I risultati possono essere registrati sulla tabella di valutazione.

Nel caso in cui i valori dei controlli non corrispondano ai criteri stabiliti il test non è valido e deve essere ripetuto. Si raccomanda di ritestare i campioni borderline.

Verificare inoltre le seguenti problematiche tecniche: data di scadenza dei reagenti (preparati), condizioni di conservazione, pipette, attrezzatura, condizioni di incubazione e metodi di lavaggio.

Se i campioni testati evidenziano valori aberranti o anomalie di qualsiasi tipo, oppure i criteri di validazione non vengono raggiunti per ragioni non imputabili alla responsabilità dell'operatore, contattare il produttore o il fornitore del kit di test.

I laboratori medici possono eseguire un controllo qualità interno, utilizzando metodologie proprie e/o sieri coltivati internamente, secondo quanto stabilito dalle normative nazionali vigenti.

9 Dati tecnici

Materiale del campione:	siero
Volume del campione:	10 µl di campione
Tempo di incubazione complessivo:	112 minuti a 20-32°C/68-89,6°F
Conservazione:	a 2-8°C/35-46°F; utilizzare esclusivamente flaconi originali.
Numero di determinazioni:	24 test

10 Performance del test

10.1 Sensibilità e specificità relativa

Per la determinazione della concordanza positiva (sensibilità relativa) sono stati esaminati con **AESKUBLOTS® Gastro Pro** 30 sieri di pazienti testati positivamente con IIF o ELISA. Per la determinazione della concordanza negativa (specificità relativa) sono stati analizzati 100 sieri di donatori di sangue.

	concordanza positiva (sensibilità relativa)	concordanza negativa (specificità relativa)
gliadina	100 %	100 %
neo-tTg	100 %	100 %
Mannani (ASCA)	100 %	100 %
contro l'antigene delle cellule parietali	100 %	100 %
fattore intrinseco	100 %	100 %

11 Bibliografia

Carmel R (1992). Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. *Clin Exp Immunol.* 89(1):74-77.

Lerner A (2014). Serological Diagnosis of Celiac Disease –Moving Beyond the Tip of the Iceberg. *International Journal of Celiac Disease.* 2(2): 64-66.

Catassi C, Räscht I-M, Fabiani E, Rossini M, Coppa GV, Giorgi PL, Bordicchia F, Candela F (1994). Celiac disease in the year 2000: exploring the iceberg. *The Lancet.* 343:200–203.

Holtmeier W, Caspary WF (1998). Antikörperdiagnostik bei Sprue/Zöliakie. *Z. Gastroenterol.* 36: 587–597.




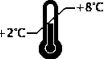

Mäki M, Collin P (1997). Coeliac disease. *Lancet.* 349: 1755–1759.

Oh R, Brown DL (2003). Vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician.* 67: 979–986.

Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM, Khosla C (2002). Structural basis for gluten intolerance in Celiac Sprue. *Science* 297:2275–2279.

Toh Ban-Hock, Alderuccio, F. (2004). Pernicious anaemia. *Autoimmunity.* 37: 357–361.

Toh Ban-Hock, van Driel Ian R. (1997). Pernicious anaemia. *NEJM.* 337:1441–1448.

IVD	Diagnosi in vitro	For in vitro diagnostic use
	Pour diagnostic in vitro	Para uso diagnóstico in vitro
	In Vitro Diagnostikum	In Vitro Διαγνωστικό μέσο
	Para uso Diagnóstico in vitro	
REF	Numero d'ordine	Catalogue number
	Référence Catalogue	Numéro de catálogo
	Bestellnummer	Αριθμός παραγγελίας
	Número de catálogo	
LOT	Descrizione lotto	Lot
	Lot	Lote
	Chargen Bezeichnung	Χαρακτηρισμός παρτίδας
	Lote	
CE	Conformità europea	EC Declaration of Conformity
	Déclaration CE de Conformité	Declaración CE de Conformidad
	Europäische Konformität	Ευρωπαϊκή συμφωνία
	Déclaracão CE de Conformidade	
	24 determinazioni	24 tests
	24 tests	24 pruebas
	24 Bestimmungen	24 προσδιορισμοί
	24 Testes	
	Rispettare le istruzioni per l'uso	See instructions for use
	Voir les instructions d'utilisation	Ver las instrucciones de uso
	Gebrauchsanweisung beachten	Λάβετε υπόψη τις οδηγίες χρήσης
	Ver as instruções de uso	
	Da utilizzarsi entro	Use by
	Utilise avant le	Utilizar antes de
	Verwendbar bis	Χρήση μέχρι
	Utilizar antes de	
	Conservare a 2-8°C	Store at 2-8°C (35-46°F)
	Conservar à 2-8°C	Conservar a 2-8°C
	Lagerung bei 2-8°C	Φυλάσσεται στους 2-8°C
	Conservar entre 2-8°C	
	Prodotto da	Manufactured by
	Fabriqué par	Fabricado por
	Hergestellt von	Κατασκευάζεται από
	Fabricado por	
STRIP	Strip di nitrocellulosa rivestita	Coated nitrocellulose strip
	Strip de nitrocellulose couché	Tira de nitrocelulosa recubierta
	Nitrozellulosemembran-Streifen mit aufgebrachtten Antigenen	Επίστρωση λωρίδα νιτροκυτταρίνης
	Tira de nitrocelulose revestido	
WASH 20x	Tampone di lavaggio	Wash buffer
	Tampon de Lavage	Solución de lavado
	Waschpuffer	Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	Solução de lavagem	
Block-Reag	Reagente bloccante	Blocking Reagent
	réactif de blocage	Reactivo bloqueante
	Blockier-Reagenz	Αντιδραστήριο αποκλεισμού
	Bloqueio de reagente	-
RCNS 10ml	Ricostituire con 10 mL	Reconstitute with 10 mL
	reconstituer avec 10 mL	reconstituir con 10 mL
	rekonstituieren mit 10 mL	Ανασύσταση με 10 mL
	reconstituir com 10 mL	-
SB	Tampone campione	Sample buffer
	Tampon Echantillons	Tampón Muestras
	Probenpuffer	Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	Diluyente de amostra	
CONJ	Coniugato	Conjugate
	Conjugé	Conjugado
	Konjugat	Σύζευγμα
	Conjugado	
SUB	Tampone substrato	Substrate buffer
	Substrat	Tampón sustrato
	Substratpuffer	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	Substrato	

