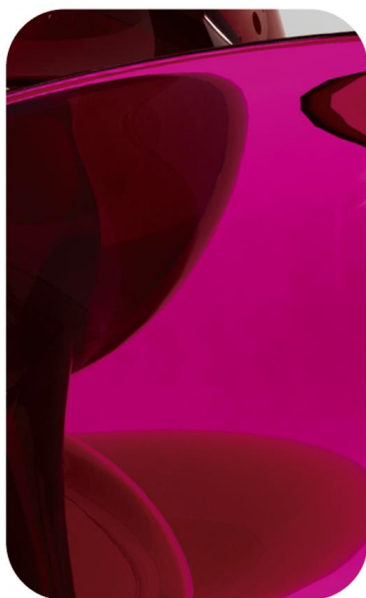
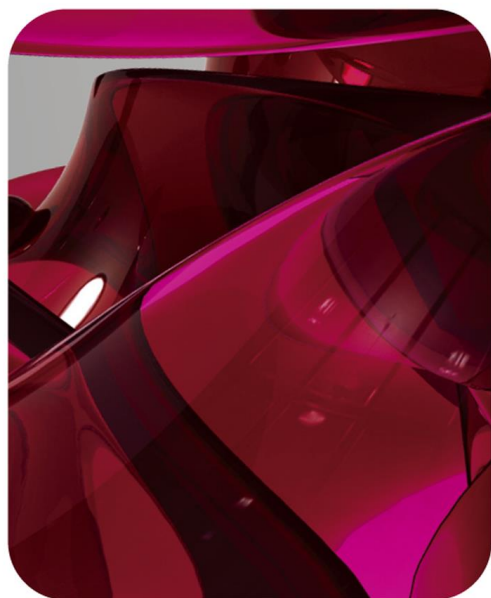




AESKU. DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKUBLOTS[®]
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

**INSTRUCTION
MANUAL**

AESKUBLOTS[®] Gastro Pro
Ref 4005

Manual de Instruções

Conteúdo

1	Utilização	1
2	Aplicações clínicas e princípio do ensaio	1
3	Componentes do Kit	2
4	Armazenamento e validade	2
5	Avisos e medidas de precaução	3
6	Recolha da amostra, manipulação e armazenamento	4
7	Procedimento do teste	4
8	Interpretação qualitativa.....	7
9	Dados Técnicos	7
10	Dados do teste / Características do teste.....	8
11	Bibliografia	8



1 Utilização

AESKUBLOTS® Gastro Pro é um imunoenensaio enzimático baseado em membrana para a deteção qualitativa de anticorpos IgG e IgA contra gliadina, tTg neo-epitope, mannan (ASCA), antigénio de célula parietal e fator intrínseco no soro. Os antigénios estão localizados como linhas paralelas em posições definidas de forma exata numa membrana de nitrocelulose.

O ensaio é uma ferramenta no diagnóstico de doença celíaca, anemia perniciosa e doença inflamatória intestinal.

2 Aplicações clínicas e princípio do ensaio

Cada secção do trato gastrointestinal pode ser afetada por doenças gastrointestinais autoimunes. As doenças são, muitas vezes, diagnosticadas anos depois dos primeiros sintomas e, em muitos casos, têm uma progressão grave.

Os doentes celíacos têm, muitas vezes, deficiência de IgA. A fim de evitar resultados negativos falsos, este teste deteta os anticorpos IgA e IgG.

Anticorpos contra:

- gliadina são comuns para doença celíaca. O tipo IgA é essencialmente específico para doença celíaca. Os anticorpos do tipo IgG ocorrem em 40-50 % dos pacientes com a doença de Crohn e também em 10 a 20% dos pacientes com colite ulcerosa.
- Neopéptidos tTg (Neo-tTg; Transglutaminase tissular com ligação cruzada com peptídeos de gliadina específicos) são um marcador fiável de doença celíaca e dermatite herpetiforme (doença de Duhring). Em virtude da similaridade estrutural com epítopes fisiológicos os anticorpos contra Neopéptido tTg mostram sensibilidade e especificidade mais elevadas se comparados com anticorpos tTg (sensibilidade 98-100 %; especificidade 93-96 %).
- Mannan (ASCA) tem uma especificidade de 97 % para a doença de Crohn. Estes são essenciais para o diagnóstico diferencial da doença de Crohn e colite ulcerosa. Até 75 % dos pacientes com doença de Crohn mostram, ao contrário de doentes com colite ulcerosa, um nível de anticorpos elevado.
- As células parietais podem detetar-se com um teste de imunofluorescência em 80 a 90 % de doentes com anemia perniciosa, mas podem também encontrar-se em 2 a 5 % de indivíduos saudáveis. Podem também ocorrer em pacientes com doenças endócrinas autoimunes e gastrite atrófica crónica de tipo A.
- O fator intrínseco mostra, para anemia perniciosa, uma sensibilidade de 50 a 70 % com uma especificidade de 100 % na população de dadores de sangue saudáveis. Estes anticorpos são também detetados em pacientes com doenças autoimunes da tiroide e gastrite atrófica crónica de tipo A.

Princípio do teste

Os antigénios são aplicados como linhas na membrana de nitrocelulose. A membrana está bloqueada para evitar reações não específicas. As tiras de membrana com antigénios específicos em posições definidas de forma exata são incubadas em amostras de soro diluído 1:101. Os anticorpos do paciente, se presentes na amostra, ligam-se ao antigénio. A parte não ligada é eliminada na etapa seguinte. Em seguida, as imunoglobulinas anti-humanas conjugadas com peroxidase de rábano (conjugado) são incubadas e reagem com o complexo antigénio-anticorpo das amostras. O conjugado não ligado é eliminado na etapa seguinte. Depois de adicionar o substrato de TMB, este é convertido em precipitado azul através de uma reação enzimática. A reação para com água destilada.

3 Componentes do Kit

DILUIR ANTES DE USAR				
Item	Quantidade	Cor da tampa	Cor da solução	Descrição/Conteúdo
Reagente de Bloqueio	3 x para 10 ml de Concentrado cada	branco	N/A	Leite em pó seco magro para preparação de 3 x 10 ml de tampão de amostra
Tampão de lavagem (20x)	1 x 50 ml	branco	incolor	20x concentrado para preparação de 1 L tampão Tris, pH 6,9 ± 0,2
PRONTO A USAR				
Item	Quantidade	Cor da tampa	Cor da solução	Descrição/Conteúdo
Conjugado, IgG	1 x 10 ml	azul	incolor	Imunoglobulina anti-humana G (IgG) conjugada com peroxidase de rábano
Conjugado, IgA	1 x 10 ml	vermelho	incolor	Imunoglobulina anti-humana A (IgA) conjugada com peroxidase de rábano
Substrato TMB	1 x 10 ml	preto	incolor	TMB/H ₂ O ₂ Estabilizado
Tiras de membrana	24 tiras	codificação de cor: preto	N/A	Antígenos revestidos ver Utilização prevista
pinças, modelo de referência, ficha de resultados, tira adesiva (lados duplos, preta)	1 pç. cada	N/A	N/A	N/A
câmara de incubação	3 pçs.	N/A	N/A	N/A
Etiquetas para tampão de amostra	3 pçs.	N/A	N/A	N/A
MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS				
plataforma de oscilação, cilindro de 1000 ml, pipeta ou cilindro para 10 ml, pipetas de precisão (10, 1000 µl), papel absorvente ou de filtro. Os nossos testes foram concebidos para utilização com água purificada segundo a definição da Farmacopeia dos Estados Unidos (USP 26 – NF 21) e da Farmacopeia Europeia (Eur.Ph. 4. ^a ed.).				

4 Armazenamento e validade

Todos os reagentes e tiras de membrana devem ser armazenados nas suas embalagens originais a 2-8 °C/35-46 °F. Depois de preparados, as soluções reconstituídas são estáveis durante 6 semanas a 2-8 °C/35-46 °F. Os reagentes e as tiras devem ser utilizados apenas dentro do prazo de validade indicado em cada componente. Não utilize componentes depois das datas de validade. Evite a exposição intensa da solução TMB à luz.

5 Avisos e medidas de precaução

5.1 Risco para a saúde

Este produto destina-se apenas a utilização para DIAGNÓSTICO IN VITRO. Desta forma, apenas pessoal com formação e especialmente treinado em métodos de diagnóstico in vitro pode executar o kit. Apesar de este produto não ser considerado como particularmente tóxico ou perigoso quando se respeitam as condições de utilização, consulte o seguinte para máxima segurança:

Recomendações e medidas de precaução

Este kit contém componentes potencialmente perigosos. Apesar dos reagentes do kit não estarem classificados como sendo irritantes para os olhos e a pele, recomendamos que evite o contacto com os olhos e a pele e use luvas descartáveis.

O substrato contém kathon (1% v/v) como conservante. Não deve ser ingerido nem deve entrar em contacto com a pele ou membranas mucosas.

Não fume, coma ou beba ao manusear o kit. Não utilize a pipeta com a boca.

Manuseie as amostras do paciente como se fossem capazes de transmitir doenças infecciosas, e em conformidade com os requisitos nacionais.

5.2 Avisos gerais

Para diferenciar entre os vários testes **AESKUBLOTS®** disponíveis, aplica-se uma codificação de cor acima da linha de referência das tiras:

Codificação de cor	AESKUBLOTS®
amarelo	ANA-12 Pro
laranja	ANA-17 Pro
azul	Myositis Pro
castanho	Liver Pro
roxo	Vasculitis Pro
preto	Gastro Pro
verde	Borrelia-G and Borrelia-M

Caso as informações sobre o produto, incluindo a rotulagem, estejam incorretas, contacte o fabricante ou o fornecedor do kit de teste.

O Reagente de Bloqueio e o tampão de lavagem podem ser trocados entre lotes e kits de teste. Todos os restantes componentes são específicos para cada kit de teste e não podem ser trocados. Não troque substâncias entre os testes de diagnóstico de autoimunidade e borrelia!

Para manusear conjugado, não utilize recipientes de poliestireno.

Permita que todos os componentes atinjam a temperatura ambiente (20-32 °C/68-89,6 °F) antes da utilização, misture bem e siga o esquema de incubação recomendado para um desempenho ideal do teste.

Nunca exponha componentes a uma temperatura superior a 37 °C/ 98,6 °F.

Pipete sempre a solução de substrato apenas com seringas completamente novas. Proteja este reagente da luz. Nunca pipete conjugado com seringas utilizadas anteriormente com outros reagentes.

Ref. do produto	4005
Desc. do produto	Gastro Pro
N.º Rev. do Manual	007 : 2016-11-02

A intensidade da cor da banda não se correlaciona necessariamente com títulos de anticorpos obtidos com outras metodologias de referência.

As amostras de doadores de sangue aparente normal podem conter auto-anticorpos.

Se a amostra do paciente contém níveis elevados de complexos imunes ou outros agregados de imunoglobulina, resultados positivos falsos através de ligação não específica não podem ser excluídos.

Um diagnóstico clínico definitivo não deve basear-se apenas nos resultados do teste executado, mas deve fazer-se pelo médico após avaliação de todos os resultados clínicos e laboratoriais. O diagnóstico deve ser verificado utilizando diferentes métodos de diagnóstico.

6 Recolha da amostra, manipulação e armazenamento

Utilize preferencialmente amostras de soro frescas. A colheita de sangue deve cumprir as prescrições legais vigentes no seu país. Não use amostras ictericas, lipemicas, hemolisadas ou que sofreram contaminação bacteriana. O soro com partículas deve ser limpo através de centrifugação a velocidade baixa (<1000 x g). As amostras de sangue devem ser colhidas em tubos limpos, secos e vazios.

Após a separação, as amostras de soro devem utilizar-se durante as primeiras 8 h. Em alternativa, as amostras devem armazenar-se em frascos devidamente fechados a 2-8 °C/35-46 °F até 48h, ou congelados a -20 °C/-4 °F para períodos mais longos. Evite congelar e descongelar várias vezes. Não utilize amostras inativadas pelo calor.

7 Procedimento do teste

7.1 Preparação

Confirme que não se formaram cristais de sal no concentrado. Se isto acontecer, dissolva os cristais aquecendo ligeiramente (à temperatura ambiente deverá ser suficiente) o concentrado.

Dilua o tampão de lavagem de concentrado 1:20 com água destilada (por ex. 950 ml mais 50 ml).

Para preparação do tampão de amostra: adicione 10 ml de tampão de lavagem a uma garrafa de Reagente de Bloqueio e misture bem.

7.2 Passos de teste

Notas importantes:

Siga exatamente este protocolo. Certifique-se de que os dois componentes mencionados no protocolo são adicionados à bandeja nos passos 2, 6, 9.

Não deixe a tira secar durante os passos da incubação.

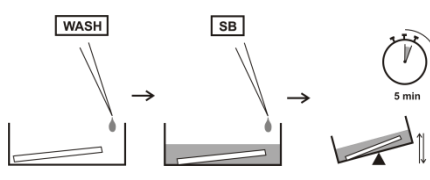
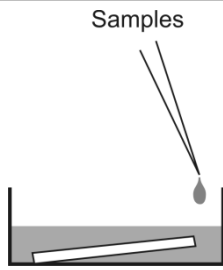
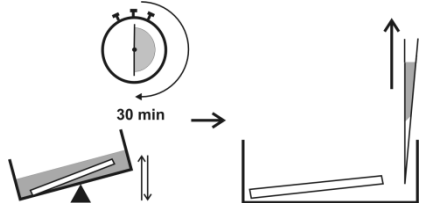
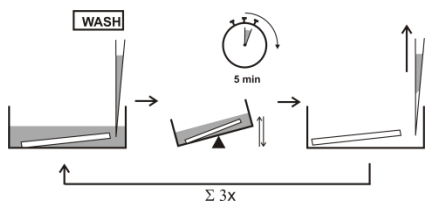
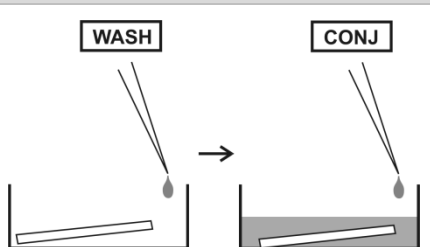
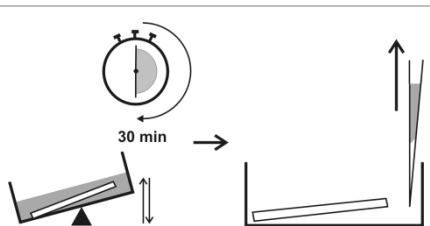
Não toque na tira com os dedos. Utilize pinças.

Retire completamente amostras diluídas depois da incubação da tira para evitar transporte.

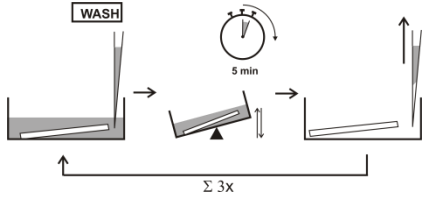
Agite a tira continuamente durante os passos de incubação.

Coloque o tampão de amostra, o conjugado e o substrato juntamente com o tampão de lavagem num dos lados da bandeja de incubação. Não permita que passe por cima da tira.

Ref. do produto	4005
Desc. do produto	Gastro Pro
N.º Rev. do Manual	007 : 2016-11-02

Passo	Descrição
1.	Verifique se as preparações do passo 7.1 acima foram realizadas antes do início do teste.
2.	 <p>Coloque a tira na orientação correta na bandeja de incubação (linha de referência e codificação de cor para cima). Coloque 700 µl de tampão de lavagem e 300 µl de tampão de amostra na bandeja de incubação. Humedeça a tira com a solução e incube durante 5 minutos com agitação.</p>
CONTROLOS E AMOSTRAS	
3.	 <p>Pipete 10 µl da amostra de soro nas bandejas de incubação designadas com o tampão de amostra.</p>
4.	 <p>Incube durante 30 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F com agitação. Depois disso, retire a amostra completamente.</p>
5.	 <p>Lave 3 vezes durante 5 minutos com 1,5 ml de tampão de lavagem através de agitação. Retire o tampão de lavagem após cada passo de lavagem.</p>
CONJUGADO	
6.	 <p>Pipete 700 µl de tampão de lavagem e 300 µl de conjugado em cada bandeja de incubação com tira.</p>
7.	 <p>Incube durante 30 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F com agitação. Retire o conjugado.</p>

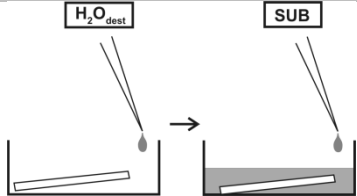
8.



Lave 3 vezes durante 5 minutos com 1,5 ml de tampão de lavagem através de agitação. Retire o tampão de lavagem após cada passo de lavagem.

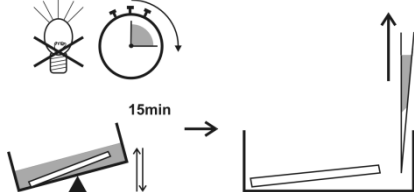
SUBSTRATO

9.



Pipete 700 µl dH₂O e 300 µl de substrato em cada bandeja de incubação com tira.

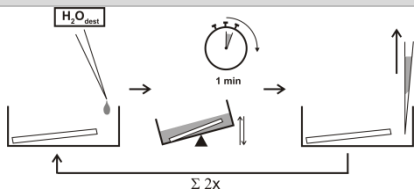
10.



Incube durante 15 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F, com agitação, protegida de luz intensa. Retire o substrato.

PARAGEM

11.



Pipete 2 ml dH₂O em cada bandeja de incubação com tira. Incube 1 minuto com agitação. Retire dH₂O. Repita este passo uma vez.

12. Retire a tira da bandeja de incubação. Seque a tira entre o papel do filtro

13. Analise os resultados no espaço de 24 h.

8 Interpretação qualitativa

8.1 Análise Manual

Os resultados do teste podem considerar-se válidos, se:

- o controlo funcional for visível
- o controlo de corte for visível
- a intensidade de cor do controlo de corte for mais fraca do que a intensidade de cor do controlo funcional

Fixe a tira seca na ficha de resultados alinhada com a linha de referência. Alinhe o modelo de referência com a linha de referência da tira. Interprete os resultados apenas com referência ao controlo de corte de cada tira.

Cada kit de teste contém uma cópia colorida com todas as bandas identificáveis no teste.

A análise é executada ao comparar as intensidades da cor das bandas com a intensidade da cor do controlo de corte. O teste é inconclusivo se as intensidades não divergirem de forma significativa. Se a cor for mais intensa, o resultado do teste é positivo, se a cor for menos intensa, o teste é negativo.

Os resultados podem registar-se na ficha de resultados.

No caso dos valores dos controlos não cumprirem os critérios, o teste é inválido e deverá ser repetido. Recomendamos que volte a testar as amostras que estejam no limite.

Devem também verificar-se as seguintes questões técnicas: prazo de validade dos reagentes (preparados), condições de armazenamento, pipetas, equipamento, condições de incubação e métodos de lavagem.

Se as amostras testadas mostrarem valores aberrantes ou qualquer tipo de desvio ou se os critérios de validação não forem cumpridos por razões que não são da responsabilidade do operador, contacte o fabricante ou o fornecedor do kit de teste.

Os laboratórios médicos podem realizar um controlo de qualidade interno, utilizando controlos próprios e/ou um "pool" de soros interno segundo os regulamentos nacionais.

9 Dados Técnicos

Material de amostra:	soro
Volume de amostra:	10 µl de amostra
Tempo de incubação total:	112 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F.
Armazenamento:	a 2-8 °C/35-46 °F; utilize apenas frascos originais.
Número de determinações:	24 testes

10 Dados do teste / Características do teste

10.1 Sensibilidade e Especificidade Relativas

A fim de determinar a concordância positiva (sensibilidade relativa), 30 soros de pacientes positivos para anticorpos IIF ou ELISA foram testados no **AESKUBLOTS® Gastro Pro**. Para determinação da concordância negativa (especificidade relativa), 100 soros de dadores de sangue foram analisados.

	concordância positiva (sensibilidade relativa)	concordância negativa (especificidade relativa)
gliadina	100 %	100 %
neo-tTg	100 %	100 %
mannan (ASCA)	100 %	100 %
antígeno de célula parietal	100 %	100 %
fator intrínseco	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, Rättsch 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.




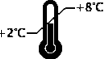

Mäki M, Collin P (1997). Coeliac disease. *Lancet.* 349: 1755–1759.

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
	Déclaração 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 aufgebracht 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	

