

**1. Cel badania**

Allergodip® jest zestawem do półilościowego oznaczania swoistych alergenowo IgE w surowicy lub osoczu. Oznaczenie powinien wykonywać fachowy personel, przeszkolony w stosowaniu metod diagnostyki in vitro.

Test służy do diagnostyki schorzeń alergicznych typu I, takich jak:

- sezonowe i całoroczne zapalenie błony śluzowej nosa i spojówek (katar sienny)
- alergiczna astma oskrzelowa
- wyprysk alergiczny (np. wywołany przez pokarmy) oraz
- alergie pokarmowe.

Allergodip® jest szczególnie przydatny, gdy wyniki testów skórnych nie są wiarygodne, np. w przypadku równoczesnego zażywania leków przeciwhistaminowych, u pacjentów z dermatozami oraz w razie obniżonej reaktywności skóry u dzieci lub osób starszych.

**2. Wstęp**

Immunoglobulina E jest białkiem surowiczym i nośnikiem aktywności reaginowej reakcji alergicznej typu I (natychmiastowej). IgE krąży w krwiobiegu. Za objawy alergiczne reakcji typu I jest odpowiedzialna IgE związana na powierzchni mastocytów i granulocytów zasadochłonnych. Wiązanie następuje poprzez fragment Fc cząsteczki IgE. Jeżeli dojdzie do kontaktu alergenu ze swoistą, związaną IgE następuje uwolnienie mediatorów prozapalnych i enzymów (np. histaminy). Nie da się ocenić IgE związanej stosując metodę do oznaczania krążącej immunoglobuliny E. Dlatego wyniki oznaczeń swoistej IgE w surowicy powinny być tylko częścią postępowania diagnostycznego obejmującego staranny wywiad, testy skórne i prowokacyjne.

**3. Zasada metody**

Allergodip® jest testem immunoenzymatycznym, służącym do oznaczania swoistych alergenowo IgE w surowicy lub osoczu. Nie wymaga posiadania sprzętu laboratoryjnego. Faza stała składa się z aktywowanych chemicznie nośników alergenowych, z którymi są związane kowalencyjnie odpowiednie alergeny.

W pierwszym etapie inkubuje się surowicę / osocze z paskiem testowym. Następuje wiązanie swoistych alergenowo IgE z odpowiednim alergenem. Nadmiar surowicy / osocza usuwa się następnie strumieniem wody.

W drugim etapie inkubuje się pasek testowy ze znakowanymi enzymatycznie przeciwciałami przeciw ludzkiej IgE (odczynnik 1), które łączą się ze swoistą IgE związaną na pasku testowym. Nadmiar znakowanych przeciwciał płucze się strumieniem wody.

W trzecim etapie pasek jest inkubowany z roztworem substratu (odczynnik 2), który w razie wyniku pozytywnego wywołuje powstanie niebiesko-fioletowego zabarwienia jednego lub więcej pól testowych.

Wynik odczytuje się porównując zabarwienie poszczególnych pól testowych ze skalą barwną. Intensywność niebiesko-fioletowego zabarwienia jest wprost proporcjonalna do stężenia swoistych alergenowo immunoglobulin IgE w surowicy / osoczu. Wynik podaje się w klasach od 0 do 4.

**4. Skład zestawu Allergodip®**

1 opakowanie zawiera 10 pasków testowych, odczynnik i akcesoria.

- 1 pojemnik z 10 paskami testowymi: 

DIPSTICK	10 ml
----------	-------
- Na jednym pasku znajduje się 9 alergenów, kontrola pozytywna i negatywna. Skład alergenowy zestawu jest podany na kartach pacjenta dołączonych do opakowania.
- Odczynnik 1 (koniugat): 

REAG	1	10 ml
------	---	-------

 10,0 ml zbuforowanego roztworu białkowego zawierającego mysie przeciwciała monoklonalne przeciw ludzkiej IgE znakowane fosfatazą alkaliczną; środek konserwujący: 0,02 % roztwór azjduku sodowego
- Odczynnik 2 (substrat): 

REAG	2	10 ml
------	---	-------

 10,0 ml roztworu 5-bromo-4-chloro-3-indolofosforanu / nitroblękit tetrazolium

- 10 pipet jednorazowych
- 30 kalibrowanych probówek 

TEST	TUBES	30x
------	-------	-----
- 1 stojak na probówki
- 10 kart pacjentów
- 1 skala barwna
- 1 instrukcja do testu

Objaśnienie oznakowania etykiety:

SPE		= Probka (surowica/osocze)
REAG	1	= Odczynnik 1 (koniugat)
REAG	2	= Odczynnik 2 (substrat)
DIPSTICK	INHA	= Alergeny wziewne
DIPSTICK	INHA IND	= Alergeny wziewne - Indie
DIPSTICK	FOOD	= Alergeny pokarmowe
DIPSTICK	FOOD PL	= Alergeny pokarmowe - Polska
DIPSTICK	FOOD IND	= Alergeny pokarmowe - Indie
DIPSTICK	MITES	= Alergeny całoroczne
DIPSTICK	MEDI	= Alerg. środowiskowe
TEST	TUBES	= Probówki

**5. Inne niezbędne materiały i urządzenia**

- Rękawice gumowe
- Odzież ochronna
- Stoper
- Dostęp do bieżącej wody
- Ręczniki papierowe

**6. Ograniczenia metody**

- **Wiarygodne i powtarzalne wyniki można uzyskać pod warunkiem wykonania badania według instrukcji (patrz rozdział 10)**
- Ujemne wyniki badań in vitro mogą wystąpić m.in. gdy:
  - objawy nie są IgE-zależne;
  - próbkę krwi pobrano zanim organizm wytworzył swoiste IgE dla antygeny;

- poziom IgE długi czas po uczuleniu ponownie się obniżył.

- Jednakowe wyniki u różnych pacjentów nie zawsze wskazują na to samo nasilenie reakcji z uwagi na jej osobnicze zróżnicowanie.
- Dodatkowo wyniki testów in vitro nie zawsze idą w parze z manifestacją kliniczną.
- Wiele przeciwciał klasy IgE wykazuje pomiędzy sobą reaktywność krzyżową, np. pyłek brzozy/jabłko, pyłek bylicy/seler, lateks/banan. Należy uwzględnić ten fakt w postępowaniu diagnostycznym.
- Jeżeli równocześnie przeprowadza się większą liczbę testów należy koniecznie **przestrzegać czasów inkubacji** pojedynczych pasków.
- Produkt nie może być ponownie wykorzystany.
- Zastosowanie próbek innych niż surowica czy osocze nie zostało potwierdzone dla tego testu.
- Rozpoznanie kliniczne nie powinno opierać się tylko na pojedynczym stwierdzeniu obecności swoistych IgE, ale powinno uwzględniać również inne dane kliniczne i wyniki badań. Oznaczenie in vitro swoistych IgE nie powinno być nigdy jedyną metodą diagnostyczną przed podjęciem immunoterapii swoistej. Dodatkowo należy wykonać testy skórne oraz – w miarę możliwości – testy prowokacyjne celem wykazania istotności klinicznej alergenu (patrz literatura p. 1).
- Szczególnie w przypadku alergii pokarmowej można uzyskać ujemny wynik in vitro, mimo obecności objawów klinicznych. Tłumaczy się to znaczną zmianą struktury pokarmu w procesie dojrzewania, obróbki przemysłowej, gotowania lub pieczenia, także in vivo działają zupełnie inne cząsteczki białkowe niż związane w fazie stałej. Cały szereg pokarmów jest bardzo wrażliwych, toteż nie wszystkie alergeny dostępne w postaci natywnej można związać w fazie stałej.

**7. Charakterystyka testu**

- Swoistość analityczna Nie jest spodziewana reaktywność krzyżowa z sIgE o innej swoistości

- Swoistość diagnostyczna 100 %

- Czułość diagnostyczna 97,5 %

- Zgodność oczekiwane wartości stwierdzono we wszystkich przypadkach

- Odtwarzalność (Inter-Assay) CV 6%

- Powtarzalność (Intra-Assay) CV 0%

- Dolna granica pomiaru < 1 kl.

- Zakres pomiaru klasy 0 - 4

Otrzymane wyniki są półilościowe i wykazują bardzo wysoką zgodność zarówno z EAST/CAP (86-97 %), jak i z testami skórnymi (87-98 %). Patrz literatura poz. 2, 3.

**8. Ograniczenia i interferencje**

Żółtaczka	0 – 0,1 mg/ml bilirubiny – bez znaczenia
Hemoliza	0 – 8 mg/ml hemoglobiny – bez znaczenia
Lipemia	0 – 5 mg/ml trójglicerydów – bez znaczenia

**9. Pobieranie i przechowywanie próbek krwi**

Każdorazowo wykorzystuje się 0,9 ml surowicy lub osocza, które można przechowywać do 5 dni w temperaturze 2 - 8 °C. Jeżeli badanie nie może być wykonane w tym czasie, zaleca się zamrożenie w temperaturze -20 °C (możliwe przechowywanie w -20 °C min. 2 lata). Unikaj rozmrażania i zamrażania próbek! Jeżeli wykorzystuje się surowicę, należy sprawdzić czy krew uległa wcześniej całkowitemu wykrzepieniu.

**10. Przeprowadzenie oznaczenia****Przygotowanie badania**

Wszystkie użyte do wykonania testu materiały (odczynniki, paski testowe, surowica / osocze) należy doprowadzić do temperatury pokojowej (18-22°C). Podczas wykonywania oznaczeń należy używać rękawic gumowych i odzieży ochronnej.

Nie dotykać pól na pasku testowym!

Ustawić statyw; wstawić po trzy puste probówki jedna za drugą na każde badanie; dla każdej próbki surowicy/osocza wypełnić jedną kartę pacjenta i oznakować jeden pasek testowy inicjałami pacjenta.

Pipetą jednorazową napełnić pierwszą probówką badanym materiałem (surowica lub osocze) do wysokości niebieskiego znacznika. Do drugiej probówki nalać bezpośrednio (bez użycia pipety) odczynnik nr 1 do oznaczonej wysokości.

**Dopiero następnego dnia** nalać do trzeciej probówki odczynnik nr 2 do wysokości niebieskiego znacznika (bez użycia pipety).

Unikaj pęcherzyków powietrza przy napełnianiu probówek.

**Wykonanie badania**

1. Pasek testowy zanurzyć w pierwszej probówce zawierającej badany materiał (surowica lub osocze). **Wszystkie pola na pasku muszą zostać przykryte. Dotyczy to wszystkich etapów inkubacji!** Inkubować przez 3 godziny w temperaturze pokojowej (TP).
2. Wyjąć pasek testowy i spłukać silnym strumieniem zimnej, bieżącej wody, przesuwając go tam i z powrotem przez 1-2 minuty. Wszystkie pola testowe muszą być starannie spłukane.
3. Oplukany pasek zanurzyć w probówce z odczynnikiem nr 1 (koniugat). Inkubować przez 18 - 20 godzin w temperaturze pokojowej (TP).
4. Ważne: teraz przygotować trzecią probówkę. Nalać do trzeciej probówki odczynnik nr 2 (substrat) do oznaczonej wysokości. Ponownie spłukać pasek testowy przez 1-2 minuty. Wszystkie pola testowe muszą być starannie spłukane.
5. Oplukany pasek zanurzyć w probówce z odczynnikiem nr 2 (substrat). Inkubować przez 45 minut w temperaturze pokojowej (TP).
6. Wyjąć pasek testowy i przepłukać pod strumieniem zimnej, bieżącej wody przez 10 sekund. Następnie lekko osuszyć bibułą lub papierowym ręcznikiem i pozostawić do wyschnięcia na pół godziny.
7. Umieścić pasek testowy na karcie pacjenta i porównać zabarwienie pól testowych ze skalą barwną klasy 0 do 4 (Patrz p.11). Wyniki odnotować na karcie pacjenta. Pasek dla potrzeb dokumentacji przymocować do karty pacjenta. (Patrz p. 13)

**Uwaga!** Kontrola pozytywna i negatywna służą do sprawdzenia poprawności przeprowadzenia testu. Kontrola pozytywna powinna mieć niebiesko-fioletowe zabarwienie, negatywna białe. W pojedynczych przypadkach kontrola negatywna może mieć zabarwienie lekko niebiesko-fioletowe. Jeżeli kontrole nie dają oczekiwanych wyników, wyniki badania należy uznać za nieważne.

8. Po rozpoczęciu badania należy wykonać je bez przerw przestrzegając kolejności etapów, temperatur i czasów inkubacji.

**Uwaga!** W przypadku istotnych zmian w sposobie wykonania badania (np. czas, kolejność, temperatura, itd.) lub jeśli przy właściwym wykonaniu widoczne są nieprawidłowości analityczne (np. wartości surowicy kontrolnej poza dopuszczalnym zakresem lub istotne różnice w powtarzalności badania) nie należy wykorzystywać uzyskanych wyników. Przed kontynuowaniem oznaczeń konieczne jest sprawdzenie testów. W wątpliwych przypadkach należy zwrócić się do dystrybutora testów.

#### Alternatywna metoda wykonanie badania

1. Pasek testowy zanurzyć w pierwszej próbówce zawierającej badany materiał (surowica lub osocze). **Wszystkie pola na pasku muszą zostać przykryte. Dotyczy to wszystkich etapów inkubacji!** Inkubować przez 60 minut w temperaturze 37°C.
  2. Wyjąć pasek testowy i splukać silnym strumieniem zimnej, bieżącej wody, przesuwając go tam i z powrotem przez 1-2 minuty. Wszystkie pola testowe muszą być starannie splukane.
  3. Oplukany pasek zanurzyć w próbówce z odczynnikiem nr 1 (koniugat). Inkubować przez 60 minut w temperaturze 37°C.
  4. Ważne: teraz przygotować trzecią próbkę. Nalać do trzeciej próbki odczynnik nr 2 (substrat) do oznaczonej wysokości. Ponownie splukać pasek testowy przez 1-2 minuty. Wszystkie pola testowe muszą być starannie splukane.
  5. Oplukany pasek zanurzyć w próbówce z odczynnikiem nr 2 (substrat). Inkubować przez 45 minut w temperaturze 37°C.
  6. Wyjąć pasek testowy i przepłukać pod strumieniem zimnej, bieżącej wody przez 10 sekund. Następnie lekko osuszyć bibułą lub papierowym ręcznikiem i pozostawić do wyschnięcia na pół godziny.
  7. Umieścić pasek testowy na karcie pacjenta i porównać zabarwienie pól testowych ze skalą barwną klasy 0 do 4 (Patrz p.11). Wyniki odnotować na karcie pacjenta. Pasek dla potrzeb dokumentacji przymocować do karty pacjenta. (Patrz p. 13)
- Uwaga!** Kontrola pozytywna i negatywna służą do sprawdzenia poprawności przeprowadzenia testu. Kontrola pozytywna powinna mieć niebiesko-fioletowe zabarwienie, negatywna białe. W pojedynczych przypadkach kontrola negatywna może mieć zabarwienie lekko niebiesko-fioletowe. Jeżeli kontrole nie dają oczekiwanych wyników, wyniki badania należy uznać za nieważne.
8. Po rozpoczęciu badania należy wykonać je bez przerw przestrzegając kolejności etapów, temperatur i czasów inkubacji.

### 11. Odczyt wyników

Wynik odczytuje się porównując zabarwienie poszczególnych pól testowych ze skalą barwną. Intensywność niebiesko-fioletowego zabarwienia jest wprost proporcjonalna do stężenia swoistych alelogenowo immunoglobulin IgE w surowicy / osoczu. Wynik podaje się w klasach od 0 do 4. Wynik testu jest dla danego alergenu pozytywny, jeżeli po porównaniu ze skalą barwną zostanie stwierdzona klasa  $\geq 1$ . Wynik uważa się za negatywny, jeżeli stwierdza się klasę 0.

Klasa	Stężenie swoistej IgE
0	nieoznaczalne
1	niskie
2	średnie
3	wysokie
4	bardzo wysokie

### 12. Prawidłowe wartości stężenia sIgE

- Allergodip®-Klasa 0 = wynik negatywny
- Allergodip®-Klasa  $\geq 1$  = wynik pozytywny

### 13. Ostrzeżenia i specjalne środki ostrożności

Należy przestrzegać następujących zasad:

1. Posługując się elementami zestawu należy przestrzegać przepisów bezpieczeństwa.
2. Nie używać uszkodzonych lub zanieczyszczonych elementów zestawu.
3. Próbkę do badania stanowią materiał potencjalnie zakaźny. W razie skażenia nim należy użyć właściwych środków dezynfekcyjnych.
4. Uwaga: Pasek testowy po wykonaniu oznaczenia należy traktować jako potencjalnie zakaźny.
5. Odczynnik 1/Odczynnik 2: Unikać kontaktu ze skórą i oczami! Nie wdychać! Nie spożywać!
6. W laboratorium zabrania się jedzenia, picia i palenia tytoniu.
7. Nie pipetować ustami!
8. Buteleczki z odczynnikami natychmiast po użyciu zamknąć. Nie należy zamieniać zakrętek.
9. W czasie pipetowania unikać krzyżowej kontaminacji.
10. Nie należy mieszać ze sobą składowych testu pochodzących z różnych zestawów.
11. Nie stosować odczynników po upływie terminu ważności.
12. Odczynniki należy usuwać zgodnie z obowiązującymi przepisami.

Lista materiałów wymagających szczególnego traktowania:

- Odczynnik 1 (Koniugat)
- Azydek sodu  $< 0,1\%$  w/w CAS 26628-22-8
- Albuminy surowicy bydlęcej CAS 90604-29-8
- Wszystkie pozostałe elementy zestawu należy usuwać zgodnie z obowiązującymi przepisami.

### 14. Kontrola jakości

- **Wewnętrzna kontrola jakości**  
Każdy pasek zawiera kontrolę pozytywną i negatywną.

### 15. Warunki przechowywania

2 – 8 °C

### 16. Termin ważności

Zestaw można używać do daty ważności określonej od daty produkcji wyrobu i podanej na zestawie oraz elementach składowych. Datą ważności jest ostatni dzień miesiąca podany na butelce i etykiecie zestawu. Nie używać odczynników po dacie ważności.

### 17. Literatura

1. In-vitro Tests: Immunglobuline E und G; Debelic M., Wahl, R., in Fuchs/Schulz, Manuale allergologicum IV.9, 1996, Dustri-Verlag, Deisenhofen
2. Allergodip – a new dipstick test for detection of specific IgE antibodies in sera from allergic patients in comparison with CAP, skin prick test and clinical history; Schlenvoigt, G.; Wahl, R.; Cromwell, O.; Fiebig, H.; Jäger, L.; Allergologie 10, 512–518 (1997)
3. Straumann F., Wüthrich B.; Food allergies associated with birch pollen: Comparison of Allergodip and Pharmacia CAP for detection of specific IgE antibodies to birch pollen related foods.; J Invest Allergol Clin Immunol 2000; 10:135-141

### 18. Obowiązanie instrukcji

Instrukcja wykonania oznaczenia obowiązuje od 1 stycznia 2015 r.

### 19. Informacje o zamawianiu

	Nr katalogowy
Allergodip® Alergeny wziewne	38006000
Allergodip® Alergeny wziewne - Indie	38006001
Allergodip® Alergeny pokarmowe	38007000
Allergodip® Alergeny pokarmowe - Indie	38007001
Allergodip® Alergeny pokarmowe - Polska	38002060
Allergodip® Alergeny śródziemnomorskie	38009000
Allergodip® Alergeny całoroczne	38010006

### 20. Skład mieszanek

Allergodip® Alergeny wziewne

- 6 traw - Kłosówka welniasta
- Kupkówka pospolita
- Życica trwała
- Tymotka łąkowa
- Wiechlina łąkowa
- Kostrzewa łąkowa

Allergodip® Alergeny wziewne – Indie

- Pleśnie mieszanek - Cladosporium herbarum
- Rhizopus nigricans
- Curvularia lunata
- Alternaria tenuis

- Trawy mieszanek - żyto zwyczajne
- cynodon palczasty
- tomka wonna

- tymotka łąkowa
- sorgo zwyczajne

- Chwasty mieszanek - Rzepień pospolity (*Xanthium strumarium*)
- Szarłat szorstki
- Bylica pospolita
- Komosa biała
- *P. hysterothorus*
- Nabłonki mieszanek - nabłonek kota
- nabłonek psa
- Zwierzęta mieszanek - odchody gołębia
- odchody szczura

Allergodip® Alergeny pokarmowe – Indie

- Ryby/Skorupiaki mieszanek - krab
- homar
- krewetka
- kingfish
- makrela
- Rośliny strączkowe mieszanek - soczewica
- groch
- fasola biała
- Zboże/Soczewica mieszanek - ryż
- mąka kukurydziana
- kasza manna
- niktla indyjska (yellow pigeon pea)
- ciecierzycza (brown chick pea)
- fasola mung
- Cebula/Czosnek mieszanek - cebula
- czosnek

### 21. Wytwórca

Omega Diagnostics GmbH  
Herrengarten 1  
DE-21465 Reinbek – Germany  
Tel. +49 40 636654-0  
Fax +49 40 636654-333  
URL [www.omegadiagnostics.de](http://www.omegadiagnostics.de)  
E-Mail [info@omegadiagnostics.de](mailto:info@omegadiagnostics.de)

Dystrybucja w Polsce :

#### NEXTER Sp. z o.o.

ul. Graniczna 66  
44-178 Przyszowice  
Tel. 32 2571 301  
Fax 32 2514 113  
URL [www.nexter.pl](http://www.nexter.pl)  
E-Mail [nexter@nexter.pl](mailto:nexter@nexter.pl)